EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Lausanne Bern Zürich Genève-Pasadena

Redactor: H. MISLIN, Basel-Mainz

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE — SCHWEIZ — SVIZZERA — SWITZERLAND

UNIVERSITY OF HAWAII LIBRARY AUG 2 '54

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

G. Viaud: Conception nouvelle du galvanotropisme animal. Expérience sur les Planaires 233

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

P. Schaufelberger: Ist der Tschernosem ein zonaler Klimabodentyp? 242
H. Dahn, J. S. Lawendel, E. F. Hoegger, R. Fischer und E. Schenker: Über eine neue Herstellung aromatisch substituierter Reduktone 245
Asima Chatterjee and S. Bose: Serpine – a New Isomeride of Yohimbine Isolated from *Rauwolfia serpentina* Benth. 246
K. Rüfenacht: 2-Styryl-4-benzal-oxazolon-(5) als hartnäckiger Begleiter von 2-Methyl-4-benzal-oxazolon-(5) 247
N. P. Buu-Hoi et M. Welsch: Activité staphylostatique de composés du groupe des benzophénarsazines 248
S. N. Iyer, A. T. Dudani, and D. L. Shrivastava: Aureomycin Inactivation by Pathogenic Bacteria 249
E. C. Grob und R. Bütler: Über die Biosynthese des β-Carotins bei *Mucor hiemalis*. Die Beteiligung der Essigsäure am Aufbau des Carotinmoleküls, untersucht mit Hilfe C^{14}-markierter Essigsäure 250
Mlle J. Le Clerc: Etude de la glucose-6-phosphatase dans la membrane chorioallantoïdienne traitée par des microsomes du foie . . . 251
P. Miescher et M. Fauconnet: L'absorption du facteur «L.E.» par des noyaux cellulaires isolés 252
Y. Oota and S. Osawa: Migration of «Storage PNA» from Cotyledon into Growing Organs of Bean Seed Embryo 254
N. Jancsó und Aurelia Jancsó-Gábor: Die Speicherung von Blutproteinen in den Histiozyten nach vorhergehender Histamineinwirkung 256
D. Cordier et G. Cordier: Influence du lavage des hématies de l'animal intoxiqué par le Phosgène sur la courbe de saturation de l'hémoglobine en oxygène 258
P. Louis: Recherches sur la fraction Y des protéines de muscles de Lapin 258
E. Flückiger und F. Verzár: Die Wirkung von Aldosteron («Electrocortin») auf den Natrium-, Kalium- und Glykogenstoffwechsel des isolierten Muskels 259
J. Tripod, E. Sury und K. Hoffmann: Zentralerregende Wirkung eines neuen Piperidinderivates 261
J. Tripod, M. Spillmann et K. Hoffmann: Activité antifibrillante chez l'animal d'un nouveau dérivé de la phényléthylamine . . . 262
E. Scharrer: Neurosecretion and Anterior Pituitary in the Dog 264
R. Borth, B. Lunenfeld et H. de Watteville: Activité gonadotrope d'un extrait d'urines de femmes en ménopause 266
G. Lange: Untersuchung von Adenosintriphosphorsäure (ATP.), Adenosindiphosphorsäure (ADP.), Adenosinmonophosphorsäure (AMP.) und Inosinsäure (IMP.) in ruhenden und kontrahierten Froschrektusmuskeln (Pro Experimentis) 268
H. Lemarchands: Appareil pour la mesure de la consommation d'oxygène des petits animaux de laboratoire (Pro Laboratorio) . . . 269
H. Lettré: Zur Wirkung von Colchiceinamiden an Zellen *in vitro* und *in vivo* (Disputandum) 271

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Progress in Metal Physics. By Bruce Chalmers (Pergamon Press Ltd. London, 1952 and 1953) (Ref. F. Rohner) 272
Advances in Veterinary Science I. Edited by C. A. Brandly and E. J. Jungherr (Academic Press Inc. New York, 1953) (Ref. H. Frey) 272

EXPERIENTIA

L'EXPERIENTIA publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications;*
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées.*

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienener *Bücher*, durch Referate über *Kongresse* und *Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

EXPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi*, in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni;*
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni*, come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports;*
3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings*, as well as through other communications.

E X P E R.

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Abonnement pour un an Fr. 32.– pour la Suisse; pour l'étranger fr. 38.–. Ces prix s'entendent en francs suisses.
Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.
Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 2 mois avant la parution. Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à part de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.
Prix pour les annonces: $^1/_1$ page fr. 220.–, ½ page fr. 132.–, ¼ page fr. 77.–. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.
L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhäuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15
Tél. 249800; adresse télégraphique: Edita Bâle

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. L'abbonamento annuo è di fr. 32.– per la Svizzera; all'estero fr. 38.–. I prezzi vanno intesi valuta svizzera.
Tutti gli invii alla redazione di EXPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.
La redazione di ogni fascicolo si chiude 2 mesi prima della pubblicazione.
Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 × 21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.
Prezzi per annunci: $^1/_1$ pag. fr. 220.–, ½ pag. fr. 132.–, ¼ pag. fr. 77.–; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.
EXPERIENTIA si stampa in Isvizzera.

Casa editrice Birkhäuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15
Tel. 249800; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Algerien, Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Italien, Luxemburg, Marokko, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen. Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 32.–, im Ausland sFr. 38.–.
Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschliesslich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluss 2 Monate vor Erscheinungsdatum.
Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 × 21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.
Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 220.–, ½ Seite Fr. 132.–, ¼ Seite Fr. 77.–; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.
Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15
Tel. 249800; Telegrammadresse: Edita Basel

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The annual subscription price by inland mail is fr. 32.–; other countries fr. 38.–. Prices in Swiss currency. All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers 2 months before the publication.
The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 × 21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.
Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 220.–, ½ page fr. 132.–, ¼ page fr. 77.–. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15
Phone 249800; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia X/6

Birkhäuser AG., Basel
Ciba AG., Basel
Ganz & Co., Zürich
E. Mettler, Zürich
Ozalid AG., Zürich
Sandoz AG., Basel
Sauter AG., Basel
Clichés Schwitter AG., Basel
Trüb, Täuber & Co. AG., Zürich

Kathodenstrahloszillograph

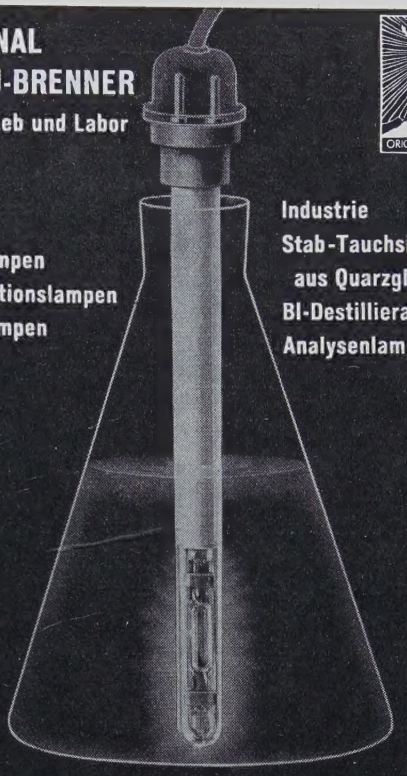
mit kalter Kathode von unbegrenzter Lebensdauer

TRÜB, TÄUBER - ZÜRICH

Fabrik elektrischer Messinstrumente
und wissenschaftlicher Apparate

ORIGINAL HANAU-BRENNER
für Betrieb und Labor

ORIGINAL HANAU



Labor
Tauchlampen
Sterilisationslampen
Flutexlampen

Industrie
Stab-Tauchsieder
aus Quarzglas
BI-Destillierapparate
Analysenlampen

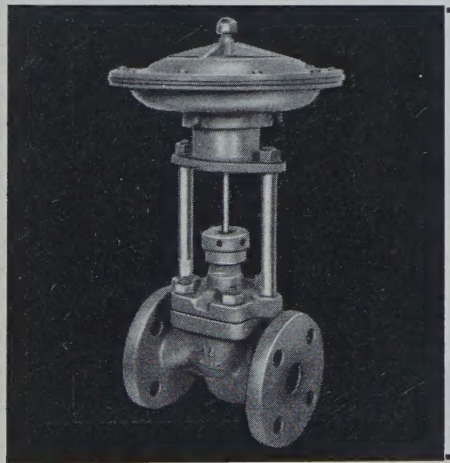
OZALID AG ZÜRICH
Flaschengasse 5 Telephon (051) 24 47 57

SCHWEIZERISCHE ZEITSCHRIFT FÜR HYDROLOGIE

REVUE SUISSE D'HYDROLOGIE

Hydrographie, Hydrobiologie, Fischereiwissenschaft, Abwasserreinigung – Hydrographie, hydrobiologie, aquiculture, épuration des eaux polluées. – Herausgegeben von der Hydrobiologischen Kommission der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft. Redaktion: *O. Jaag*, Eidg. Technische Hochschule, Zürich. 24,5 × 17 cm. Jährlich erscheinen 2 Hefte. Abonnementspreis pro Jahr für die Schweiz Fr. 24.–, Ausland Fr. 28.–, Einzelheft Fr. 12.–. Die Bände 1–10 (1920–1948) kosten je Fr. 25.– plus Porto, der Band 11 (1948–1949) Fr. 40.–, Ausland Fr. 48.–.

In der Zeitschrift finden Aufnahme: Originalarbeiten von schweizerischen und ausländischen Autoren aus dem Gesamtgebiet der theoretischen und angewandten Hydrobiologie und Limnologie, einschliesslich der Randgebiete (Fischereiwissenschaften, Hydrographie, Gewässerschutz, Abwasserreinigung usw.), ferner Referate über wichtige Neuerscheinungen.



Pneumatische Regulierungen

für die chemische Industrie

SAUTER

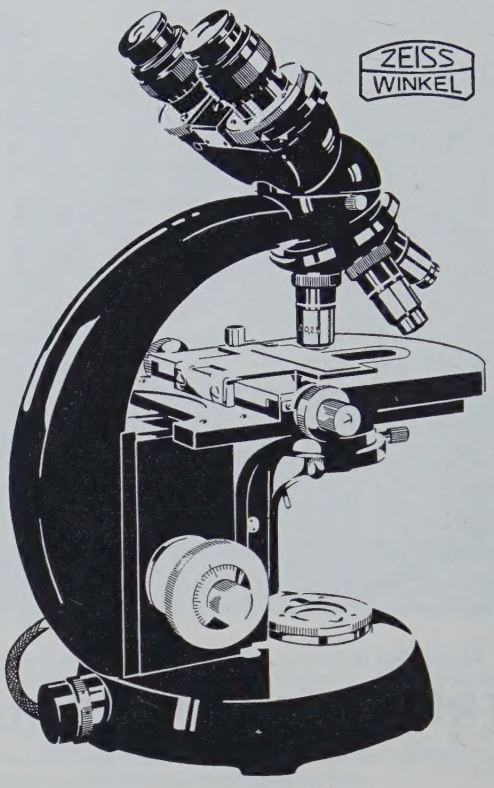
FR. SAUTER AG., BASEL · FABRIK ELEKTRISCHER APPARATE

*

NEUES **ZEISS**-WINKEL STANDARD-MIKROSKOP GF 625

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

- **Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhlersches Prinzip) für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie**
- **Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung**
- **Grosser Kreuztisch mit koaxial gelagerten, links- und rechtsseitig angebrachten Triebknöpfen**
- **Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive**
- **Vergrösserungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)**
- **Schlittenrevolver für fünf Objektive**
- **Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor**
- **Neue Achromate und Neofluare mit dezimalgeometrischer Abstufung der Vergrösserungen**



Auskunft und Vorführung durch die Generalvertretung für die Schweiz:

GANZ & Co
BAHNHOFSTR. 40
TEL(051) 23 97 73
Zürich

für den Erfolg entscheidend

ist die moderne Ausrüstung Ihres Laboratoriums. Dazu gehört in erster Linie die METTLER Analysenwaage. Wegen ihrer Genauigkeit und einfachen Bedienung ist sie auf der ganzen Welt zum Begriff geworden. Verlangen Sie bitte eine unverbindliche Demonstration.

Mettler ANALYSENWAAGE

E. METTLER ZÜRICH 1 SCHWEIZ PELIKANSTR. 19 TEL. (051) 25 25 70

EXPERIENTIA

Vol. X - Fasc. 6 Pag. 233–272 15. VI. 1954

Conception nouvelle du galvanotropisme animal
Expérience sur les Planaires

Par G. VIAUD[1], Strasbourg

I.–*Introduction*

Le galvanotropisme est une réaction causée chez de très nombreux animaux aquatiques par le courant électrique continu (ou courant galvanique) et caractérisée par une orientation et une locomotion vers un des pôles du champ. On dit que le galvanotropisme est négatif, ou mieux *cathodique*, quand l'organisme se déplace vers la cathode. Dans ce cas, le courant électrique est *ascendant* dans son corps, car on considère conventionnellement qu'il va de l'anode vers la cathode. L'organisme est alors en position *homodrome*, puisqu'il s'oriente et se déplace dans le sens du courant. Le galvanotropisme est positif, ou *anodique*, le courant est *descendant* et la position de l'organisme *antidrome* dans le cas contraire.

Le comportement galvanotropique a été découvert chez des Protozoaires par KÜHNE en 1864. Mais c'est chez les Vertébrés (Poissons, Amphibiens) qu'il a d'abord été étudié, entre 1885 et 1895 (HERRMANN[2], EWALD[3], BLASIUS, SCHWEIZER[4], NAGEL[5]). Ces recherches, qui ne peuvent être considérées aujourd'hui que comme des travaux d'approche, ont cependant établi les faits suivants:

1° Le galvanotropisme des Vertébrés est généralement anodique, au contraire de celui des Protistes et des Invertébrés, généralement cathodique.

2° Toutefois, les têtards de Batraciens et les jeunes Poissons nagent vers la cathode si on emploie des courants faibles.

3° La position homodrome est celle dans laquelle les animaux sont le plus excités par le courant; ils présentent alors une vive activité (confirmation par MOORE, 1927). Mais cette position devient vite gênante ou douloureuse et les animaux l'abandonnent pour la position antidrome. Car, si le courant ascendant a une action excitante, le courant descendant a une action calmante (cf. les phénomènes analogues découverts en 1888 par ONIMUS et LEGROS dans l'excitation électrique du névraxe des Chiens et des Hommes). Ainsi, en s'orientant vers l'anode, l'animal rechercherait la «position de la moindre souffrance».

Les premiers travaux faits sur le galvanotropisme ont donc abouti à une explication *psychologique*. Mais cette explication ne vaut que pour le galvanotropisme anodique, elle est muette sur le cas du galvanotropisme cathodique.

Les conceptions qui ont ensuite vu le jour, à la fin du siècle dernier et pendant le premier quart de celui-ci, se sont toutes opposées à l'emploi de notions psychologiques, car celles-ci «n'expliquent rien» de l'avis de la plupart des physiologistes. Ce sont:

A. – *La conception de* J. LOEB[1]. Elle est dans la ligne de la théorie générale des tropismes de cet auteur: l'orientation d'un animal dans un champ énergétique quelconque est due uniquement aux variations de la contraction tonique des muscles des effecteurs symétriques latéraux; ces variations de la contraction musculaire dépendent généralement de la stimulation plus ou moins grande des récepteurs symétriques; dans le cas de l'excitation par le courant électrique, ces récepteurs peuvent être des neurones moteurs centraux.

LOEB[2] a étudié particulièrement le cas de la Crevette *Paloemonetes:* son galvanotropisme est cathodique; l'étude de son comportement dans le courant montre que ses pattes sont fléchies du côté de l'anode, étendues du côté de la cathode. Si l'animal est mis en travers du courant, il résulte de ces flexions et de ces extensions un pivotement vers la cathode. En somme, la tension des muscles des pattes de *Paloemonetes* est toujours altérée par le courant de telle manière que le mouvement vers la cathode est facilité, tandis qu'il est rendu difficile ou impossible vers l'anode.

Ces variations de tension des muscles seraient dues à l'action du courant sur les neurones moteurs qui les commandent. L'explication donnée sur ce point par LOEB, fondée sur l'électrotonus de PFLÜGER, est entièrement hypothétique. Pour être plus bref, nous ren-

[1] Faculté des sciences de l'Université de Strasbourg.

[2] L. HERRMANN et F. MATHIAS, *Der Galvanotropismus der Larven von Rana temporaria und der Fische*, Pflüger's Archiv *57*, 391–405 (1895).

[3] J. R. EWALD, *Über die Wirkung des galvanotropischen Stroms bei der Längsdurchströmung ganzer Wirbeltiere*, Pflüger's Archiv *55*, 606–621 (1894).

[4] E. BLAZIUS et F. SCHWEIZER, *Elektrotropismus und verwandte Erscheinungen*, Pflüger's Archiv *53*, 493–543 (1893).

[5] W. A. NAGEL, *Über Galvanotaxis*, Pflüger's Archiv *54*, 603–642 (1895).

[1] J. LOEB, *Die Tropismen*, Wintersteins Hdb. der vgl. Physiol. t. 4 (G. Fischer, Jena 1913), p. 487–490.

[2] J. LOEB et S. S. MAXWELL, *Galvanotropismus in Paloemonetes*, Pflüger's Archiv *63*, 121 (1896).

voyons le lecteur à l'analyse que fit ROSE[1] du travail de LOEB. ROSE note d'ailleurs que l'hypothèse de LOEB ne cadre pas avec de nombreux faits expérimentaux (par exemple, inversion du sens du galvanotropisme des Crustacés sous l'influence de substances chimiques diverses).

B. – *Le galvanotropisme selon* H. S. JENNINGS[2]. En opposition sur cette question avec sa théorie générale des réactions des animaux inférieurs aux agents physiques, JENNINGS admet que le galvanotropisme est un comportement dépourvu de finalité ou de caractère adaptatif. Il est sans rapport avec les besoins de l'organisme, il n'obéit pas à la «loi de l'optimum» (évitement de conditions défavorables, recherche de conditions favorables). Mais, dit-il, c'est une exception, qui confirme la règle; car c'est une pure réaction de laboratoire, sans rapport avec les conditions normales de vie.

JENNINGS appuie ses conclusions sur le galvanotropisme des Ciliés, en particulier celui des Paramécies. Ce comportement avait été étudié par de nombreux auteurs (VERWORN, LUDLOFF, STATKEWISCH, etc.); il l'a été par JENNINGS lui-même. Les Paramécies sont cathodiques. La cause de cette réaction est, dit JENNINGS, «le renversement des cils cathodiques» sous l'influence du courant. Quelle que soit la position de la Paramécie dans le courant, toujours les cils de la partie de son corps tournée vers la cathode battent en sens inverse de leur sens normal (les cils «anodiques» continuant à battre normalement). Le renversement des cils cathodiques explique l'orientation vers la cathode, car il produit un pivotement vers ce pôle quand l'animal est en travers du courant. Le galvanotropisme serait donc uniquement fondé sur un phénomène ciliaire causé par le courant[3].

Cette explication est certainement inadéquate: 1° Quand on inverse le courant, on voit souvent (JENNINGS l'a observé lui-même) les Paramécies pivoter du *côté aboral* de leur corps, quelle que soit leur position dans le courant nouvellement établi, pour s'orienter vers la nouvelle cathode. Ce pivotement est «leur réaction ordinaire aux changements des conditions environnantes». Les Paramécies s'orientent donc parfois *activement* dans le courant. – 2° Les segments postérieurs de Paramécies (coupées transversalement au niveau de la bouche) vont vers la cathode comme les Paramécies entières; cependant, on n'observe pas dans ces segments de cils rebroussés constamment vers la cathode; c'est seulement lorsque le segment change de direction, pour éviter un obstacle, qu'on voit une modification de la direction des battements ciliaires qui ramène le segment à l'orientation cathodique (ALVERDES, 1923). – 3° Le renversement des cils cathodiques existe aussi chez les Planaires (PEARL[1], 1903); pourtant elles s'orientent vers la cathode par flexion de la partie antérieure de leur corps dans cette direction: réaction, dit PEARL, qui ressemble à toutes les réactions «positives» des Planaires à des stimuli faibles de nature diverse.

C. – *Le galvanotropisme selon* G. BOHN[2]. Suivant la conception générale de cet auteur, les tropismes de LOEB ne sont pas dus à des excitations de récepteurs symétriques bilatéraux (car nombreux sont les animaux sans symétrie bilatérale qui présentent cependant des tropismes). Ce sont en réalité des «mouvements polarisés», ou impulsions motrices déclenchées et orientées par l'agent stimulant chez des organismes doués d'une polarité interne. Il est vrai que la polarisation antéro-postérieure est plus générale que la symétrie bilatérale.

BOHN examine en particulier le cas des Planaires. Ces animaux ont une organisation polarisée bien connue surtout depuis les travaux de CHILD, qui se manifeste dans leur morphogénèse et leur métabolisme comme dans leur locomotion (polarité directionnelle). Tous ces phénomènes doivent être rapportés, pense BOHN, à une polarisation fondamentale «électrochimique» de l'organisme, de ses tissus, des cellules et même des molécules qui le composent.

La dépendance de la polarité directionnelle des Planaires relativement à leur organisation polarisée se manifeste bien dans la vieille expérience de DUGÈS: cet auteur a coupé transversalement des Planaires en plusieurs segments; chacun d'eux se déplaçait comme la Planaire entière, c'est-à-dire vers sa partie antérieure. Les segments de Planaire sont donc polarisés comme le sont les morceaux brisés d'un aimant permanent.

BOHN suppose que la même structure polarisée est capable d'expliquer la polarisation des mouvements déclenchés par une stimulation physique ou chimique. Mais il ne donne aucun fait décisif à l'appui. De plus, pour rendre compte des changements de sens des mouvements polarisés (ou changements de «signe» des tropismes loebiens), il suppose que la polarisation interne de l'animal est capable de s'inverser périodiquement. D'où l'hypothèse que les organismes sont des «systèmes électro-chimiques polarisés oscillants».

La critique de cette conception est aisée: elle manque de preuves expérimentales (l'expérience de DUGÈS ne portant que sur la polarité directionnelle). Pour la «polarité réactionnelle», on ne voit pas comment on peut la rattacher à la polarisation interne: il manque ici une notion intermédiaire fondée sur des faits. Cependant, l'idée de BOHN de relier le galvanotropisme

[1] M. ROSE, *La question des Tropismes* (P. U. F., Paris 1929).

[2] H. S. JENNINGS, *Behavior of the Lower Organisms* (Columbia University Press, New-York 1906).

[3] Pour plus de détails, voir par exemple: G. VIAUD, *Les Tropismes* (P. U. F., Paris 1951), p. 61.

[1] R. PEARL, *The Movements and Reactions of Fresh-Water Planarians a Study in Animal Behaviour*, Quart. J. microscop. Sci. *46*, 509–714 (1903).

[2] G. BOHN, *La forme et le mouvement* (Flammarion, Paris 1921).

à une structure électro-chimique polarisée de l'organisme, est peut-être excellente et peut servir d'hypothèse de travail.

Principales recherches faites depuis 1920. Depuis l'abandon, sous la pression des idées de LOEB, des premières conception sur le galvanotropisme (HERRMANN, EWALD, etc.) qui faisaient intervenir des notions psychologiques, toutes les théories, même celle de JENNINGS, n'ont voulu expliquer ces réactions qu'à l'aide de notions physiologiques, biophysiques ou biochimiques. Comme nous l'avons vu, elles tentaient le plus souvent de ramener la réaction globale d'orientation et de locomotion dans le courant galvanique à des réactions segmentaires ou partielles; seul BOHN conçut nettement le rôle de l'organisme entier (facteur polarisation). Mais, pour tous ces auteurs, la stimulation agit, directement ou indirectement, sur les effecteurs, sans l'intermédiaire de facteurs psychologiques.

A l'enthousiasme suscité à la fin du siècle dernier par les expériences de galvanotropisme a succédé un désintérêt presque total. On avait cru y voir les bases de départ pour de nouvelles recherches sur l'excitabilité des tissus par l'électricité; mais le développement considérable de l'électro-physiologie des nerfs a fait complètement oublier ces tentatives. Aucun travail d'importance capable de renouveler la question du galvanotropisme n'a vu le jour après les conceptions que nous venons de citer. Cependant, des travaux ultérieurs très intéressants ont apporté des faits nouveaux, que nous allons brièvement exposer:

A. – HYMAN et BELLAMY[1] (1922) ont étudié chez un grand nombre de formes animales (et aussi chez les Planaires) la polarité électrique du corps et les rapports de cette polarité avec le sens des réactions galvanotropiques. Ils ont trouvé que, chez tous les Invertébrés examinés, la tête est électriquement négative par rapport à la partie postérieure et que tous ces organismes présentent du galvanotropisme cathodique; les Vertébrés, par contre, ont une polarité électrique inverse et sont généralement anodiques.

SCHAEFER remarque, à propos de ce travail, que «le fait que les animaux, dont l'extrémité antérieure présente une tension de repos négative par rapport à l'extrémité postérieure, s'orientent vers la cathode, ne nous apporte aucune explication causale satisfaisante»[2].

B. – KAMADA[3] (1928–1931), étudiant le galvanotropisme des Paramécies et son inversion en galvanotropisme anodique sous l'influence d'agents chimiques, observe que tous les effets du courant (excitation, battements cilaires, déformation et désintégration du corps) se produisent plus facilement (avec des seuils plus bas ou des temps d'exposition moins longs) en position homodrome qu'en position antidrome. Ces faits prouvent que la position homodrome est celle dans laquelle l'organisme est le plus excité par le courant. KAMADA ne dit rien, à ce sujet, des Paramécies à galvanotropisme inversé; il se contente d'ailleurs de signaler les faits que nous citons et ne les utilise pas.

C. – SCHEMINSKY[1] (1931), travaillant sur les Echinodermes, distingue dans leur galvanotropisme biphasique deux ordres de réactions: les réactions primaires ou cathodiques, les réactions secondaires ou anodiques. Les réactions cathodiques apparaissent dès le seuil et peuvent continuer longtemps avec des courants faibles; les anodiques se manifestent avec des courants forts ou des expositions prolongées à des courants d'intensité moyenne. Ces dernières disparaissent si on met hors jeu le système nerveux (par résection ou action du CO_2). De ces faits, SCHEMINSKY conclut que les réactions anodiques sont des réactions de fuite, dues à la «fatigue», devant l'excitation venant de l'électrode cathodique.

Les réactions cathodiques sont dues à une action du courant sur tous les tissus de l'organisme. Ce qui le prouve, c'est que des bras détachés d'Astérie, ou même des pieds ambulacraires isolés, présentent des réactions cathodiques (et seulement ces réactions). Les tissus de ces organes isolés ont certainement une polarité (ou anisotropie) interne, car un segment de bras d'Astérie ne réagit galvanotropiquement que si sa section distale est tournée vers la cathode; il ne réagit pas en sens inverse.

Enfin, les seuils des réactions galvanotropiques sont d'autant plus bas que la taille des animaux est plus grande. Ce fait se retrouve chez d'autres formes vivantes (Poissons, par exemple) et montre bien le rôle de l'organisme entier dans ce comportement.

D. – *Le «pseudo-galvanotropisme» de* M. F. CANELLA[2] (1937). Bien que les Vertébrés, nous l'avons dit, puissent réagir cathodiquement avec des courants faibles, généralement ils sont anodiques. CANELLA n'étudie que les réactions anodiques des Batraciens et des Poissons. De ses observations, il conclut que ce sont des réactions de fuite vers l'anode, «la cathode étant l'électrode excitante». Si les électrodes sont de petite surface, par rapport à la section de la cuve, on voit les animaux chercher à se mettre hors du champ, sans aller vers l'anode. Si le champ emplit la cuve, ils peuvent sauter par-dessus bord. Ils cherchent donc à s'évader du champ par tous les moyens. Pour bien

[1] L. H. HYMAN et A. W. BELLAMY, *Studies on the Correlation Between Metabolic Gradients, Electrical Gradients and Galvanotaxis*, Biol. Bull. *5*, 313–347 (1922).

[2] H. SCHAEFER, *Elektrophysiologie*, vol. I, (Deuticke, Wien 1940), pag. 74.

[3] T. KAMADA, *The Time-intensity Factor in the Electro-Destruction of the Membrane of Paramecium*, J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sect. IV, Zool. *2*, 41–49 (1928); *Polar Effect of Electric-current on the Ciliary Movements of Paramecium*, J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sect. IV, Zool. *2*, 285–298 (1931).

[1] FE. SCHEMINSKY, *Zur Analyse der zweiphasischen Galvanotaxis der Echinodermen*, Pflüger's Archiv *226*, 366–376 (1931). – FE. SCHEMINSKY, FR. SCHEMINSKY et F. BUKATSCH, *Elektrotaxis, Elektrotropismus, Elektronarkose und verwandte Erscheinungen*, Tab. Biol. *19*, 2 (1941), Cellula, 76–262.

[2] M. F. CANELLA, *Si può parlare di galvanotropismo negli Ictiopsidi?*, Boll. Soc. ital. Biol. sper. *12*, 1–3 (1937).

indiquer que ces réactions anodiques sont très différentes du galvanotropisme des Invertébrés, CANELLA les appelle «pseudo-galvanotropisme».

Conclusions sur ces nouvelles recherches. Les travaux de la plupart de ces auteurs mettent en évidence une structure polarisée ou anisotrope des organismes galvanotropiques, sans aller au-delà de cette constatation.

D'autre part, SCHEMINSKY et CANELLA remettent en honneur des notions psychologiques: fatigue, fuite, recherche des conditions les moins défavorables.

Mais ces notions ne s'appliquent qu'au galvanotropisme anodique, qui n'est qu'un «pseudo-galvanotropisme». Aucune réponse n'est donnée aux questions posées par le galvanotropisme cathodique, primaire et même unique chez beaucoup d'espèces.

Les faits que nous avons relatés tendent à montrer qu'il existe, aussi bien chez les Vertébrés que chez les Protistes et les Invertébrés, une *tendance primaire* de l'organisme à s'orienter en sens cathodique. Mais en quoi consiste cette tendance? Quelles expériences peuvent donner à cette notion une signification positive?

II.–*Nos recherches sur le galvanotropisme des Planaires*

Bien que ces recherches ne soient pas encore terminées, nous croyons devoir les exposer dès maintenant sous leur aspect actuel, car elles donnent les bases d'une conception nouvelle du galvanotropisme. Leur point de départ est dans les pages de BOHN que nous avons citées plus haut. Nous avons pensé en les lisant qu'il convenait de vérifier l'hypothèse du facteur organisation polaire de l'animal dans le déterminisme de ses réactions galvanotropiques, et de préciser la nature et le rôle de ce facteur. Faites sans autre idée préconçue, ces recherches nous ont conduit à des conclusions que nous étions bien loin de soupçonner quand nous les avons entreprises.

1° *Choix du matériel biologique.* Nous avons choisi les Planaires (l'espèce *Planaria = Dugesia lugubris* O. Schm.), d'abord parce que les conceptions de BOHN étaient fondées sur des expériences faites avec ces animaux, ensuite parce qu'on peut les segmenter sans tuer les segments et même en leur conservant la possibilité de se régénérer (une partie égale à 1/273 de Planaire peut régénérer une Planaire entière!); ce qui permet d'étudier commodément la polarité interne des Planaires et la capacité de réponse galvanotropique des diverses parties de leur corps.

Les expériences que nous avons faites sont de deux sortes: *a*) Etude des réactions galvanotropiques des Planaires entières et de leurs parties (description de ces réactions, mesures de leurs seuils, mesures des vitesses de locomotion en fonction de la densité du courant);

b) Etude de la résistance électrique du corps des Planaires et de leurs parties, en sens homodrome et en sens antidrome. Cette étude avait pour but de déceler une anisotropie des tissus du corps de la Planaire, en sens longitudinal, quant à la conduction du courant. Une telle anisotropie nous a paru en effet plus importante pour mettre en évidence la structure polarisée de l'organisme que la polarité de surface, déjà découverte par HYMAN et BELLAMY.

2° *Appareillage. a*) Etude des réactions galvanotropiques: Nous nous sommes servi de cuves rectangulaires en verre ayant à leurs extrémités des électrodes impolarisables à paroi d'amiante. Le compartiment du milieu, contenant les animaux d'expérience, avait de l'eau jusqu'à une hauteur déterminée (mesure facile de la surface de section du champ électrique). Des accumulateurs, des résistances variables, un inverseur de courant et un galvanomètre permettant des mesures de l'ordre de 10^{-6} A, complétaient l'appareillage.

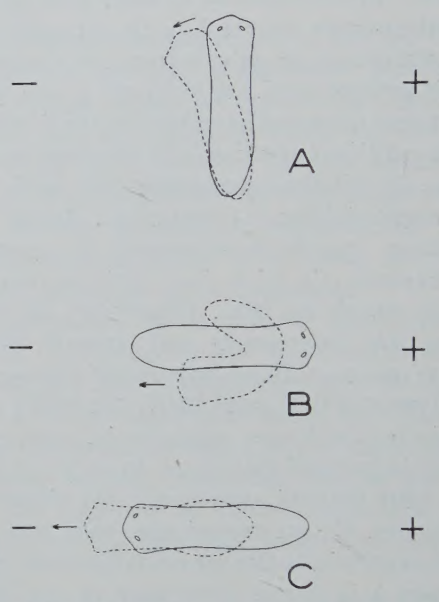


Fig. 1. Orientation d'une Planaire dans un courant galvanique. *A*, position préalable transverse; *B*, position préalable antidrome; *C*, position préalable homodrome.

b) Etude de la résistance du corps de la Planaire: montage comprenant essentiellement un réducteur de potentiel (pour obtenir des courants d'excitation de l'ordre de 10^{-7} A passant par le corps de la Planaire[1]) et un système amplificateur à lampe triode pour faire plus aisément les lectures au galvanomètre. La Planaire était placée sur une lame de verre et asséchée avec du papier-filtre. Le courant était amené par des électrodes en argent chloruré, placées l'une à la tête, l'autre à la queue.

3° *Description du galvanotropisme des Planaires.* Le galvanotropisme d'un animal comprend ordinairement deux aspects réactionnels: l'orientation vers un des

[1] Le débit indiqué ici est mesuré en court-circuitant les électrodes. Mais il est beaucoup plus faible quand la Planaire est placée entre électrodes, car la résistance de l'animal est de l'ordre de 10^5 à $10^6\ \Omega$.

pôles, l'électrocinèse ou augmentation de la vitesse de progression sous l'influence du courant.

a) *Orientation.* Elle a lieu vers la cathode et se fait par une courbure de la partie antérieure du corps quand l'animal est en position transverse au moment de la fermeture du courant ou quand il est en position antidrome. Si l'animal est en position homodrome, on observe seulement un mouvement de progression vers la cathode, débutant par une contraction de la partie postérieure (Fig. 1). Les réactions d'orientation supposent la mise en jeu des muscles longitudinaux (PEARL).

b) *Electrocinèse.* A cette orientation est jointe une locomotion (glissement sur le fond), dont la vitesse est généralement régulière. Mais il n'y a pas d'électrocinèse chez les Planaires: si on augmente l'intensité du courant à partir du seuil d'orientation (vers 30 μ A/cm²) on observe une diminution progressive de la vitesse de locomotion vers la cathode. Cette décroissance est logarithmique et a lieu selon trois pentes successives (Fig. 2).

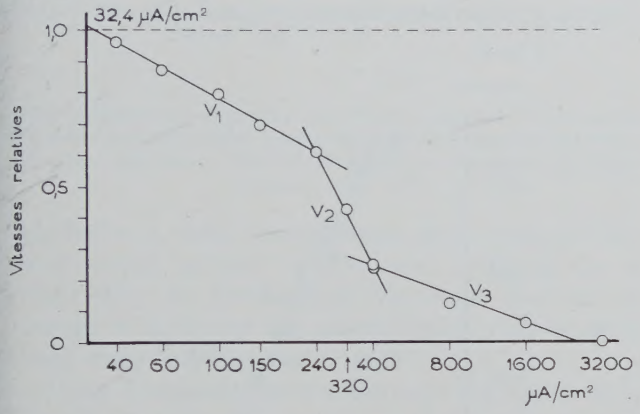


Fig. 2. Variations des vitesses de progression vers la cathode de *Planaria lugubris* en fonction de la densité du courant. Coordonnées semi-logarithmiques. Seuil moyen de la réaction galvanotropique: 32,4 μ A/cm².

Ce phénomène est sans doute particulier à la progression ciliaire: la diminution de vitesse avec l'accroissement de la densité du courant est due au fait du renversement des cils «cathodiques», facteur inhibiteur dont l'importance dépend de l'intensité du courant. On observe le même phénomène chez les Paramécies (VIAUD[1], 1951).

Mais le pharynx isolé des Planaires, qui se comporte pendant le temps de sa survie (une heure ou deux seulement) comme un Ver annelé, et se déplace non par le moyen de cils, mais par des mouvements péristaltiques de reptation, dus aux contractions de ses muscles longitudinaux et circulaires, manifeste contrairement à la Planaire entière, une électrocinèse très nette: augmentation logarithmique de sa vitesse de progression vers la cathode en fonction de la densité du courant (à partir d'un seuil voisin de 125 μ A/cm²) (Fig. 3).

4° *Mise en évidence de facteurs de polarisation dans le galvanotropisme des Planaires.* Rappelons d'abord

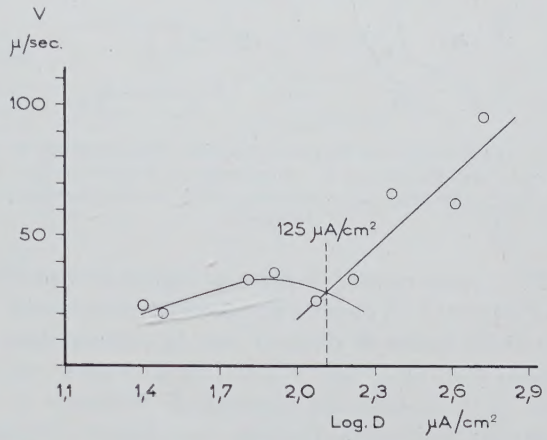


Fig. 3. Variations des vitesses de déplacement «à reculons» vers la cathode de pharynx isolés de *Planaria lugubris* en fonction de la densité du courant. Coordonnées semi-logarithmiques. Seuil moyen de la réaction galvanotropique: 125 μ A/cm². Au-dessous du seuil, on observe des contractions qui peuvent produire un déplacement vers la cathode, mais non un galvanotropisme régulier.

l'expérience de DUGÈS (1828) sur les segments transversaux des Planaires: ils se déplacent, pendant quelque temps au moins, dans le même sens que la Planaire entière. Ce fait indique l'existence chez les segments d'une *polarité directionnelle* analogue à celle de la Planaire entière et *de même sens* (Fig. 4).

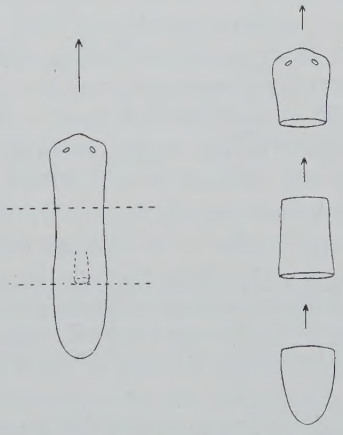


Fig. 4. Expérience de DUGÈS. Polarité directionnelle d'une Planaire et de segments transversaux du même individu.

WULZEN (1917) a montré que les pharynx isolés se meuvent par mouvements péristaltiques vers leur partie distale. Si nous nous référons à la place qu'occupe le pharynx dans la Planaire entière, nous voyons que le pharynx, lorsqu'il est isolé, est doué d'une polarité directionnelle *de sens contraire* de celle de l'animal entier. Le sens de la polarité directionnelle du pharynx dépend évidemment de sa position dans le corps de la

[1] G. VIAUD, *Réactions galvanotropiques de pharynx isolés de Planaria lugubris*, C. r. Soc. Biol. *144*, 1203 (1950).

Planaire et de sa fonction de capture et d'ingurgitation des aliments (Fig. 5).

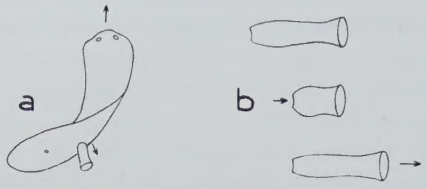


Fig. 5. Observations de WULZEN. Polarités directionnelles de sens inverse d'une Planaire et de son pharynx. *a* Planaire entière avec son pharynx en place. *b* Le pharynx isolé et ses mouvements péristaltiques.

Nous avons montré de plus que segments et pharynx de Planaires sont doués d'une *polarité réactionnelle:* les uns et les autres se dirigent vers la cathode dans un champ électrique, tout comme les Planaires entières (Fig. 6). L'analogie des segments de Planaires et des morceaux d'aimant se poursuit donc dans les réactions galvanotropiques. Ces faits montrent bien que toutes les parties d'une Planaires sont douées de quelque polarité interne qui commande leurs mouvements polarisés.

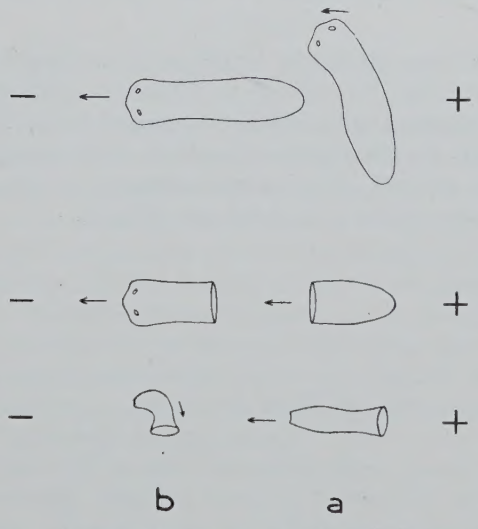


Fig. 6. Orientation et déplacement galvanotropiques d'une Planaire entière, de ses segments antérieur et postérieur et de son pharynx isolé. (En *a*, le pharynx progresse à reculons vers la cathode; en *b*, il essaie de se retourner vers la cathode, sans y parvenir.)

Toutefois, il faut noter ici une différence importante entre le comportement des pharynx et celui des segments transversaux. Tandis que ces segments se déplacent dans le courant comme les Planaires entières, c'est-à-dire tête ou partie antérieure vers la cathode, les pharynx isolés se déplacent partie proximale vers la cathode, c'est-à-dire *à reculons* par rapport à leur polarité directionnelle. Parfois on les voit essayer de se retourner, de s'orienter partie distale vers la cathode. Mais ils ne dépassent guère en général la position transverse; et alors ou bien ils reviennent à leur orientation première et continuent de progresser à reculons vers la cathode; ou bien, s'ils réussissent à se mettre en ligne dans le courant, partie distale vers la cathode, toute réaction galvanotropique (progression en ce sens) cesse aussitôt; et pourtant on s'attendrait à ce qu'ils progressent plus aisément selon leur polarité directionnelle qu'à reculons (Fig. 6). A quoi tiennent ces faits?

5° *Le déterminisme de la polarité réactionnelle dans le galvanotropisme des Planaires.* La polarisation des réactions de la Planaire, de ses segments et de son pharynx isolé dans le champ électrique, doit certainement provenir de quelque polarité ou anisotropie physiologique ou biophysique de ces organismes et des tissus qui les composent, comme l'avait pensé BOHN.

Les expériences nous ont montré que nous avons affaire à deux sortes d'anisotropie:

a) Anisotropie d'excitation. La Planaire entière présente une anisotropie d'excitation suivant son axe longitudinal. Les seuils de ses réactions galvanotropiques sont plus bas quand on la dispose avant la fermeture du courant en position homodrome que quand on la met en position antidrome. Ce phénomène se manifeste avec toute la netteté désirable si l'on étudie les variations des seuils homodromes et antidromes en fonction de la taille du corps des animaux: les seuils varient logarithmiquement en raison inverse de la taille et toujours les seuils homodromes sont inférieurs aux seuils antidromes (Fig. 7).

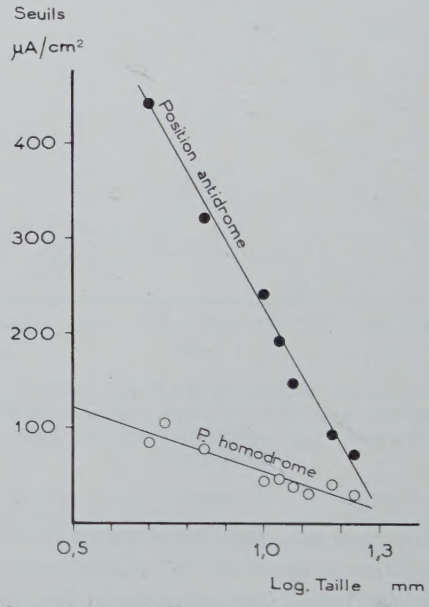


Fig. 7. Anisotropie d'excitation chez *Planaria lugubris*. Variations des seuils galvanotropiques en position préalable homodrome et en position préalable antidrome en fonction de la taille de l'animal. Coordonnées semi-logarithmiques.

Cela signifie évidemment que la Planaire est plus sensible au courant électrique lorsqu'elle est en position homodrome que lorsqu'elle est en position antidrome.

b) Anisotropie électrique. Les mesures de résistance du corps de la Planaire suivant son axe longitudinal

montrent également une anisotropie notable à ce point de vue: les résistances en position homodrome sont plus faibles que les résistances en sens antidrome; c'est-à-dire que les tissus conduisent mieux le courant en sens homodrome qu'en sens antidrome. Cette

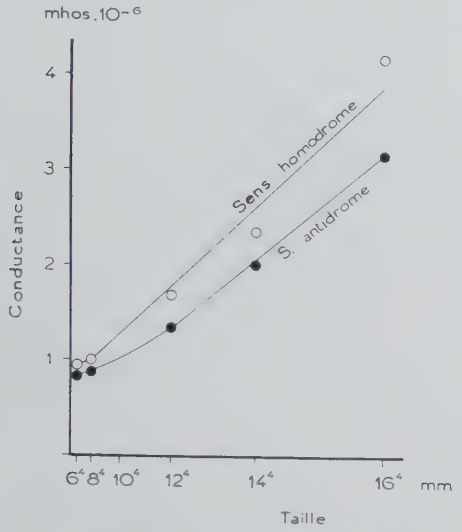


Fig. 8. Anisotropie électrique chez *Planaria lugubris*. Variations de la conductance électrique du corps de la Planaire en sens homodrome et en sens antidrome en fonction de la taille. En abscisses: quatrième puissance de la taille.

conductance (dans l'un et l'autre sens) croît approximativement suivant la puissance quatrième de la taille (Fig. 8). L'anisotropie électrique (calculée en faisant la différence des conductances dans les deux sens) varie de même avec la taille.

Il est à supposer que l'anisotropie électrique est la base biophysique de l'anisotropie d'excitation: on peut admettre en effet que la Planaire est d'autant plus sensible à l'action du courant que ses tissus sont plus facilement traversés par celui-ci[1].

c) Anisotropie d'excitation et anisotropie électrique des segments. Les mêmes phénomènes se retrouvent dans les segments transversaux des Planaires: ces segments ont des seuils plus bas en sens homodrome qu'en sens antidrome (le sens homodrome étant celui dans lequel la partie antérieure du segment est tournée vers la cathode). Mais les seuils sont toujours nettement plus élevés chez les segments postérieurs que chez les segments médians et surtout que chez les segments antérieurs, qui ont des seuils très voisins de ceux des Planaires entières. Ces faits démontrent l'existence d'un gradient de sensibilité au courant en sens longitudinal dans la Planaire entière; cela n'a rien d'étonnant puisque la majeure partie du système nerveux se trouve dans la région céphalique.

D'autre part, l'anisotropie électrique, ou de conduction du courant, se manifeste dans chacun des segments: ils conduisent mieux le courant en sens homodrome qu'en sens antidrome. Cette anisotropie est du même ordre pour les divers segments; elle semble donc être une propriété de tous les tissus de la Planaire.

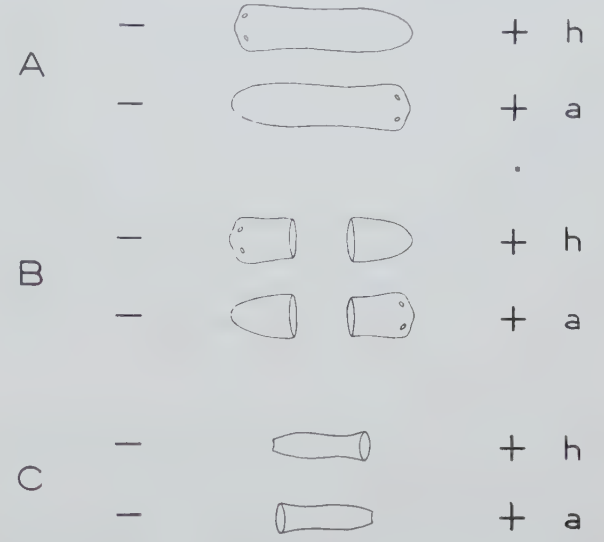


Fig. 9. Définitions des positions homodrome et antidrome pour: *A*, la Planaire entière; *B*, ses segments antérieur et postérieur; *C*, son pharynx isolé. Les lettres *h* et *a* désignent les positions homodrome et antidrome. En position homodrome, la conductance et l'excitabilité sont plus grandes qu'en position antidrome. L'orientation et le déplacement galvanotropiques ont lieu vers la cathode.

d) Anisotropie d'excitation et anisotropie électrique des pharynx isolés. Nous convenons d'appeler position homodrome pour le pharynx isolé la position dans laquelle sa partie distale est tournée vers l'anode; en position antidrome sa partie distale est tournée vers la cathode. Cette convention s'impose en effet si l'on veut comparer les anisotropies du pharynx avec celles de la Planaire: il faut considérer le pharynx comme s'il était encore en place dans la Planaire (Fig. 9).

Les expériences montrent que les pharynx isolés sont facilement excités par le courant lorsqu'ils sont en position homodrome et donnent alors des réactions galvanotropiques dont on peut déterminer les seuils (comme il a été dit plus haut). Par contre, quand ils sont en position antidrome, ils ne réagissent pas ou ne réagissent que par des contractions même pour des intensités élevées du courant d'excitation. Il y a donc chez les pharynx isolés une anisotropie d'excitation semblable à celle des Planaires entières et *de même sens*.

D'autre part, les mesures de résistance au passage du courant montrent que les pharynx conduisent mieux le courant en sens homodrome qu'en sens antidrome: l'anisotropie du pharynx est du même ordre que celle d'une Planaire de même taille (5 mm environ): 0,13 mho $\times 10^{-6}$. Les pharynx isolés sont donc doués d'une anisotropie électrique semblable à celle des Planaires entières et *de même sens*[1].

[1] G. VIAUD, *Galvanotropisme, anisotropie d'excitation et anisotropie électrique chez une Planaire* (*Planaria = Dugesia lugubris* O. Schm.), J. Physiol. *44*, 343–345 (1952).

[1] G. VIAUD, *Anisotropie d'excitation galvanique et anisotropie électrique de segments et de pharynx isolés de Planaria = Dugesia lugubris* O. Schm., C. r. Soc. Biol. *146*, 1382 (1952).

Ainsi toutes les parties du corps d'une Planaire présentent des anisotropies d'excitation et de conduction électrique analogues à celles que présente la Planaire entière, et de même sens.

e) Inversion expérimentale des anisotropies et inversion du sens du galvanotropisme. Tous les faits rapportés ci-dessus aboutissent à prouver l'existence d'une liaison constante entre les anisotropies mises en évidence et le sens du galvanotropisme: la plus grande conductance en sens homodrome détermine vraisemblablement l'orientation vers la cathode, qui correspond aussi à la position homodrome dans le champ.

Une contre-épreuve de cette liaison serait donnée si, inversant par quelque moyen l'anisotropie de conduction électrique, on obtenait consécutivement l'inversion de l'anisotropie d'excitation et l'inversion du sens de l'orientation galvanotropique.

Nous avons réalisé un peu empiriquement l'inversion de l'anisotropie électrique d'un certain nombre de Planaires (une vingtaine) en les soumettant plus ou moins longtemps à l'action de rayons ultra-violets et en faisant de temps à autre, au cours de cette exposition, des mesures de résistance au passage de courants très faibles. Dans tous les cas où nous avons réussi (la moitié de 40 individus ainsi traités), nous avons obtenu un renversement du galvanotropisme (de cathodique en anodique). Dans quelques cas, les animaux n'étant pas trop malmenés par les ultra-violets et par les mesures de résistance nous avons vérifié que leur anisotropie d'exication était aussi inversée.

Donc, si, chez une Planaire, la conductance des tissus est plus grande en sens antidrome qu'en sens homodrome, cette Planaire est aussi plus excitable en position homodrome qu'en position antidrome et, dans un champ électrique, elle s'oriente vers l'anode. Nous n'avons d'ailleurs aucune explication à donner sur cette action des rayons ultra-violets.

f) La loi du maximum d'excitation. On peut résumer les faits établis jusqu'ici en disant que l'anisotropie électrique du corps de la Planaire commande l'anisotropie d'excitation de cet organisme qui, à son tour, détermine le sens des réactions galvanotropiques; dans le cas normal:

Conduct. homo. > Conduct. anti. → Excit. homo > Excit. anti → Galvanotr. cathodique.

Mais l'explication du sens des réactions galvanotropiques n'est évidemment pas encore complète. Pourquoi l'anisotropie d'excitation détermine-t-elle le sens de ces réactions?

La réponse à cette question est cependant immédiate: puisque la Planaire s'oriente dans le courant de manière à atteindre la position homodrome si c'est dans cette position qu'elle est le plus excitable, et la position inverse si c'est en position antidrome qu'elle est le plus excitable, il s'ensuit qu'elle s'oriente toujours vers la position qui lui donne, de la part du courant, le maximum d'excitation.

Si nous généralisons ce fait – et les faits déjà connus par ailleurs, concernant le galvanotropisme d'autres espèces, paraissent bien nous y autoriser –, nous pouvons énoncer la loi suivante, ou *loi du maximum d'excitation: Un animal galvanotropique s'oriente toujours dans le courant de manière à être excité au maximum par celui-ci.*

Il est évident que cette loi ne peut s'appliquer qu'au galvanotropisme véritable, ou primaire, et non aux réactions de fuite décrites par SCHEMINSKY ou au pseudo-galvanotropisme de CANELLA. Dans de telles réactions, l'animal s'oriente au contraire de manière à être excité au minimum par le courant.

Le cas particulier des pharynx isolés de Planaires doit encore retenir notre attention. Nous avons vu que la direction «normale» de déplacement des pharynx est vers leur partie distale. Toutefois, dans un champ électrique, ils se meuvent «à reculons» vers la cathode. L'antagonisme qui oppose la polarité directionnelle des pharynx à leur polarité réactionnelle est nettement visible dans leurs réactions galvanotropiques, puisqu'ils essaient souvent de se retourner, pour aller «normalement» vers la cathode, mais n'y parviennent pas. Dans cet antagonisme, c'est la polarité réactionnelle qui l'emporte, c'est-à-dire les anisotropies électrique et d'exitation. Ces faits montrent que la direction des réactions galvanotropiques est exclusivement déterminée par ces anisotropies et par la loi du maximum d'excitation.

6° *Nature des facteurs en jeu dans le galvanotropisme des Planaires.* Nous pouvons appeler biophysiques des phénomènes physico-chimiques qui ont pour siège les tissus ou les cellules d'êtres vivants; physiologiques, les phénomènes qui sont dus au fonctionnement d'organes ou d'ensembles d'organes; psychologiques, les faits de comportement, ou actions de l'organisme entier, en particulier les réponses sensori-motrices, lesquelles supposent, outre le fonctionnement coordonné d'appareils sensoriels et moteurs, la possibilité d'orienter ces réponses par rapport aux stimuli externes suivant certaines lois propres à l'organisme, ou lois de comportement.

Partant de ces définitions, nous pouvons dire que l'anisotropie électrique est un facteur biophysique, car elle dépend de phénomènes physico-chimiques ayant leur siège dans les tissus du corps de la Planaire. L'anisotropie d'excitation est un facteur physiologique, puisqu'elle dépend d'une fonction réceptrice des mêmes tissus et surtout de l'excitabilité du système nerveux (en entendant ce mot dans son sens le plus large et en comprenant, en plus du système nerveux central, les plexus du pharynx et le réseau nerveux diffus qui existe dans tout le corps de la Planaire). Enfin, l'orientation vers la position du maximum d'excitation est un facteur psychologique: elle suppose,

en effet, non seulement des liaisons entre les récepteurs (qui sont ici les tissus dans leur ensemble) et les effecteurs (muscles et cils locomoteurs), mais encore un ajustement de la réponse suivant une tendance primaire de l'organisme à s'orienter suivant la loi du maximum d'excitation.

C'est ce facteur psychologique que n'avaient aperçu ni LOEB ni aucun des auteurs qui l'ont plus ou moins suivi. Ils avaient même plutôt cherché à l'écarter. LOEB avait essayé de montrer que le stimulus électrique agit directement sur les neurones moteurs et avait inventé de toutes pièces un mécanisme capable de faire comprendre comment se produit nécessairement une orientation définie dans le champ. BOHN avait conçu une explication d'un type plus général et mieux en accord avec les faits en introduisant la notion de polarité. Mais il cherchait à rattacher directement les «mouvements polarisés» à l'organisation polaire de l'animal. Sous cette forme cette entreprise ne pouvait réussir: l'orientation d'un organisme dans un champ énergétique ne dépend pas directement de sa structure anisotrope et des forces qu'elle engendre, mais de la manière dont l'organisme est sensible à ces dernières et des lois de comportement qui dirigent sa réaction.

Chose curieuse, JENNINGS qui considérait en général tous les comportements sous l'angle de la loi de l'optimum, qui est une loi psychologique, fit une exception pour le galvanotropisme. C'est que les expériences faites par lui-même et par ses devanciers sur le galvanotropisme des Ciliés ne montraient pas à l'évidence le jeu d'une telle loi. Force lui fut donc de penser, à la manière de LOEB, que le courant agit directement sur les cils, au moins sur une partie d'entre eux. Ainsi supprimait-il, lui aussi, dans ce cas particulier, le jeu de facteurs psychologiques. L'explication se trouvait suffisamment d'accord avec les faits d'observation et elle est restée classique.

La loi de l'optimum fut reprise, comme nous l'avons dit, par SCHEMINSKY et par CANELLA, pour expliquer les réactions anodiques du galvanotropisme biphasique des Echinodermes et les réactions anodiques des Vertébrés. Mais il restait à rendre compte des réactions cathodiques. A cette question nous répondons en montrant qu'il faut admettre l'existence d'une autre loi de comportement: la loi du maximum d'excitation, tout aussi fondamentale que la loi de l'optimum et qui commande des comportements plus primitifs encore que ceux qui obéissent à cette dernière loi.

Objectera-t-on cependant, en suivant la tradition loebienne, que notre conception, n'étant pas exclusivement biophysique et physiologique, est seulement «verbale» et dénuée de valeur scientifique? L'expérience montre qu'on ne peut faire abstraction, même dans l'étude du déterminisme de réactions simples comme le galvanotropisme, de la sensibilité de l'être vivant et de ses rapports avec la réactivité de ce dernier. Certes, se contenter de parler d'une «tendance» primaire, à propos de telles liaisons de fait entre sensibilité et réactivité, c'est s'exposer au reproche de n'avoir élaboré qu'une explication verbale. Mais établir une loi de comportement, à l'aide d'expériences, pour préciser la nature de cette tendance, c'est former une conception positive. Expliquer scientifiquement, ce n'est pas toujours découvrir des liens de causalité, tant s'en faut; c'est, plus généralement, trouver les lois auxquelles obéissent les phénomènes de certains genres. Enfin, de l'ordre des phénomènes qu'elle régit ne dépend pas la valeur d'une loi naturelle: une loi de comportement peut être aussi scientifique qu'une loi physiologique ou physique. Ce qui compte, c'est la rigueur des expériences qui l'établissent.

III. – *Conclusions*

Le galvanotropisme, réduit à ses aspects fondamentaux, orientation dans le courant électrique continu vers un des pôles du champ et locomotion dans cette direction, dépend d'une anisotropie de l'organisme qui se manifeste d'abord par des phénomènes biophysiques: les tissus sont plus conducteurs du courant dans un sens (généralement homodrome) que dans l'autre (sens antidrome). De ce fait, la stimulation est plus forte dans le sens où le courant passe le plus facilement que dans le sens contraire. L'organisme ressent les effets de cette stimulation: il en résulte une anisotropie d'excitation, l'organisme étant généralement plus sensible quand il est en position homodrome que lorsqu'il est en position antidrome; c'est un phénomène physiologique qui semble avoir pour siège principal le tissu nerveux. Dans sa réaction motrice à l'excitation, l'animal obéit à la loi du maximum d'excitation (phénomène psychologique) et s'oriente de manière à être excité le plus possible par le courant. D'où le galvanotropisme, en général cathodique, c'est-à-dire orientation et déplacement vers la cathode.

On peut inverser expérimentalement les anisotropies fondamentales et provoquer ainsi l'inversion du galvanotropisme qui, de cathodique, devient anodique. De telles inversions se produisent sans doute dans la nature.

Peut-être est-il exagéré de parler, avec BOHN, de «systèmes polarisés oscillants» pour caractériser les organismes galvanotropiques susceptibles de présenter tantôt des réactions cathodiques tantôt des réactions anodiques. Car l'anisotropie électrique «normale» est celle d'une conductance plus grande en sens homodrome qu'en sens antidrome, et cette anisotropie paraît présenter une assez grande stabilité. En tout cas, l'hypothèse de BOHN, d'une inversion de la polarisation (ou anisotropie) électrique de l'organisme expliquant l'inversion du sens du galvanotropisme est certainement valable pour les Planaires.

Mais il se peut que l'inversion du sens du galvanotropisme tienne aussi à d'autres facteurs. Par exemple,

dans le cas du galvanotropisme régulièrement biphasique des Echinodermes, il est fort possible que l'apparition de la phase anodique soit due à un état du système nerveux (état de fatigue), sans changement d'anisotropie électrique des tissus, et que l'animal, dans son orientation anodique, obéisse alors à la loi de l'optimum, c'est-à-dire recherche des conditions minimales d'excitation. Cette hypothèse serait évidemment à vérifier par l'expérience.

Mais, que les réactions galvanotropiques obéissent exclusivement à la loi du maximum d'excitation, comme c'est le cas des Planaires, ou qu'elles obéissent tantôt à cette loi et tantôt à la loi de l'optimum (Echinodermes, Vertébrés...), des facteurs psychologiques sont toujours nécessaires pour expliquer ces réactions. Telle est, pensons-nous, la conclusion la plus importante de notre travail.

Zusammenfassung

Die Galvanotaxis der Tiere ist fast immer kathodisch: Orientierung und Fortbewegung zur Kathode. Seit LOEB gehen die Erklärungen dahin, diese Reaktion nur mit Hilfe physiko-chemischer und physiologischer Begriffe zu erklären, jedoch ohne Erfolg. Ausgehend von einer Hypothese von BOHN über die Rolle der inneren Polarität der Organismen bei der Bestimmung ihrer polaren Bewegungen, zeigt der Verfasser, dass im Körper von Strudelwürmern zwei Typen von Anisotropie vorhanden sind bei Verwendung sehr schwacher galvanischer Ströme in Richtung der Längsachse der Tiere: Eine Anisotropie der elektrischen Stromleitung (grössere Leitfähigkeit bei homodromer – Kopf gegen Kathode – als bei antidromer Lage – Kopf gegen Anode); eine Erregungsanisotropie (grössere Erregung durch den elektrischen Strom bei homodromer als bei antidromer Lage). Die elektrische Anisotropie der Gewebe bestimmt die Erregungsanisotropie des Organismus. Die Richtung der Galvanotaxis wird bestimmt durch das Gesetz der maximalen Erregung: das Tier orientiert sich immer so, dass es durch den elektrischen Strom maximal erregt wird. Hieraus die kathodische oder homodrome Orientierung. Die gleichen Resultate ergaben sich auch mit Teilstücken des Strudelwurmes, ebenso mit dem isolierten Rüssel. Experimentell lässt sich die elektrische Anisotropie eines Strudelwurmes umkehren; es erfolgt darauf eine Umkehrung seiner Erregungsanisotropie und seiner Galvanotaxis, die anodisch wird.

Die Anodenreaktionen von Echinodermen (zweiphasische Galvanotaxis) und der Wirbeltiere können wahrscheinlich durch das Optimum-Gesetz erklärt werden: Aufsuchen der minimalen Erregungsstellung (SCHEMINSKY, CANELLA). Im Determinismus des Verhaltens spielen jedoch immer, ob die Galvanotaxis dem Gesetz der maximalen Erregung oder dem Gesetz des Optimums unterliegt, psychologische Faktoren eine Hauptrolle.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Ist der Tschernosem ein zonaler Klimabodentyp?

In allen Lehrbüchern der Bodenkunde und in den offiziellen Bodenklassifikationen finden wir den Tschernosem als Klimabodentyp des gemässigten semihumiden Klimas beschrieben. Typisch ist sein A-C-Profil mit dem fehlenden Unterboden und den Kalkkonkretionen. Auch gilt er allgemein als baumfeindlich, und anerkannt ist auch die Verlagerung von Ca nach der Tiefe. Über die Bildungsbedingungen des Tschernosems gehen die Ansichten auseinander. Aber darauf wollen wir nicht eintreten und nur die Frage seiner systematischen Stellung prüfen: ist der Tschernosem ein Klimabodentyp oder nicht?

In jedem Klima finden wir einen Bodentyp, der hauptsächlich die Kennzeichen des Klimas trägt. Wir wollen ihn als Klimasol (zonal) bezeichnen. Einen andern Bodentyp finden wir auf basenreichen Muttergesteinen, den wir als Litosol (intrazonal) bezeichnen. Recht verschiedene Böden finden wir bei der Beteiligung der Hydrologie. Diese Böden nennen wir Hydrosol (azonal). Schliesslich können auch Hydrologie und Muttergestein neben dem Klima die Bodenbildung beeinflussen, und es bilden sich dann Hydrolitosole (azonal-intrazonal). Die Ausdrücke zonal, intrazonal, azonal und azonal-intrazonal werden in Verbindung mit der Genetik gebraucht und haben mit der geographischen Verbreitung keine Beziehung. In Eurasien verlaufen die zonalen Böden einigermassen parallel zu den Breitengraden, während in Kolumbien und den Vereinigten Staaten von Nordamerika sie Nord–Süd gerichtet sind.

RUSSELL[1] macht darauf aufmerksam, dass die europäischen Tschernosemgebiete mit einer Lösszone zusammenfallen, und SIGMOND[2] klassiert den Tschernosem als «Kalkboden», wie auch den kastanienbraunen Steppenboden. WILHELMY[3] anerkennt die Erklärung

[1] E. J. RUSSELL, *Condiciones del suelo y crecimiento de las plantas* (Editorial Poblet, Madrid und Buenos Aires 1934).

[2] A. A. J. DE SIGMOND, *Los principios de la ciencia del suelo* (Méjico 1944).

[3] H. WILHELMY, Erdkunde *4*, 1, 5 (1950).

Laatschs, dass zur Tschernosembildung neben einem gewissen Klima noch ein Ca- und Mg-reiches Muttergestein notwendig sei. In Europa und in den Vereinigten Staaten von Nordamerika kennt man die Tschernosembildung bei Regenfaktoren zwischen 40–160, also aus dem semiariden, semihumiden und humiden Klima. Diese Tatsache spricht nun nicht gerade für einen Klimabodentyp, aber die Gegner der Regenfaktoren führen sie gerne als Beweis für die Unrichtigkeit der Regenfaktoren an.

Der Chemismus der Bodenbildung wird verschieden gedeutet. Lang[1] glaubte, dass in den Gelb- und Roterden das Verhältnis von Kieselsäure und Aluminiumoxyd verschieden sei, aber sein Vorschlag fand wenig Beachtung, und Böden der gemässigten Zone werden kaum damit klassiert. Harrassowitz[2] kam dann auf den unglücklichen Einfall, dieses Verhältnis auf die Tropenböden anzuwenden, und sofort wurde diese Anregung von den Lehrbüchern der Bodenkunde aufgenommen. Niggli[3] dagegen schreibt: «Es muss nun die erste Aufgabe sein, nachzuprüfen, ob in den Gesteinen oder in gewissen, einen natürlichen Zusammenhang bildenden Gesteinsgruppen zwischen diesen Atomarten häufig auftretende besondere Beziehungen erkennbar sind. *Das petrochemische Material muss regional und allgemein statistisch verarbeitet werden.* Nun wird man von vornherein sagen können, dass bei immerhin mindestens 8 Hauptkomponenten Vergleiche von Analysen in Gewichtsprozenten wenig durchsichtig sein werden. Die gewählten Einheiten müssen nach wissenschaftlichen Gesichtspunkten miteinander direkt vergleichbar sein. Es kommen daher nur atomare oder molekularchemisch-äquivalente Zahlenbezeichnungen in Frage.»

Was für den Chemismus der petrologischen Vorgänge gilt, dürfte auch für bodenkundliche gelten, zumal dieselben Elemente auch das Muttergestein der Böden bilden. In diesen selber finden wir noch Humus und Wasser, die dem Boden von aussen zugeführt worden sind. Rechnet man nun eine Bodenanalyse in Niggli-Werte um, so erhält man 5 Zahlenkomponenten, und diese beziehen sich auf die mineralische Bodenzusammensetzung, sind daher «humus- und wasserfrei». Eine solche Bodenanalyse besagt vorerst durchaus noch nichts, aber sobald man sie mit dem Muttergestein vergleicht, so erhält man sofort einen Einblick über die chemische Veränderung durch die Bodenbildung. Bei den Klimasolen ändert sich der Chemismus mit den Regenfaktoren, während Litosole in allen Klimaten denselben Chemismus zeigen.

Nun haben wir gesehen, dass zur Tschernosembildung ein basenreiches Muttergestein notwendig sei. Wir wollen nun einmal die Bodenbildung auf Kalkstein mit derjenigen eines Tschernosems vergleichen (Tab. I).

Das Verhältnis si:al ist für die Böden der gemässigten Zone viel grösser als für Java, aber wir warnen, daraus irgendwelche Schlüsse ziehen zu wollen, da sehr wahrscheinlich die nächste Analyse aus den Tropen den Schluss widerlegen dürfte. Die Auswaschungsfaktoren sind die Quotienten der Niggli-Werte des Bodens durch die entsprechenden des Muttergesteins. Sind diese grösser als 1, so hat im Boden eine Anreicherung der betreffenden Moleküle stattgefunden, sind sie kleiner als 1, so sind die entsprechenden Elemente aus dem Boden entfernt worden. In allen Böden ist die Kieselsäure (si) angereichert, was besagt, dass aus dem Boden die Basen entfernt wurden, und dadurch reicherte sich die Kieselsäure passiv an. Ferner sind die Auswaschungsfaktoren für Alkalien grösser als 1; die Anreicherung kann ebenfalls passiv sein oder durch die Zufuhr von oben aus der faulenden Waldstreu. Dagegen ist der Auswaschungsfaktor für Ca(c) kleiner als 1, und infolgedessen muss dieses Element aus dem Boden ausgewaschen worden sein, wie dies beim Tschernosem tatsächlich der Fall ist. Durch seine Abwanderung ist natürlich ein Anwachsen der übrigen Basen bedingt, wie zum Beispiel beim Al(al). Auch das Fe dürfte sich im Boden passiv anreichern, dagegen dürfte Mg mindestens teilweise mit dem Ca abwandern, und je nach dem Mg-Gehalt des Muttergesteins ist dann der Auswaschungsfaktor für fm grösser oder kleiner als 1.

Bei Tschernosem finden wir denselben Chemismus wie bei den Böden auf Kalk, es handelt sich also zu aller mindesten um einen Litosol, der unabhängig vom Klima ist und sich daher sehr wohl bei Regenfaktoren zwischen 40 und 160 bilden kann. Nun müssen wir aber noch zeigen, dass sich bei Regenfaktoren zwischen 60 und 100 tatsächlich ein Klimasol bildet, der einen andern Chemismus aufweist als der Litosol.

In den Tropen bilden sich bei Regenfaktoren zwischen 60 und 100 der Quindíoböden, auf basenreichen Muttergesteinen, und der Humusboden als Klimasol. Aus dem erstern wird Ca verlagert, und im letztern werden die Alkalien und Ca im Boden angereichert. Ausserhalb der Tropen finden wir bei gleichen Regenfaktoren ebenfalls Humusböden mit dieser Basenanreicherung (Tab. II).

In allen diesen Böden sind die Auswaschungsfaktoren für Ca(c) und Alkalien (alk) grösser als 1; diese Elemente haben sich also im Boden angereichert. Im Boden von Ungarn ist die Basenanreicherung sogar absolut, und deswegen ist der Auswaschungsfaktor für Kieselsäure (si) etwas kleiner als 1. Bei den übrigen Böden ist sie relativ, und der Auswaschungsfaktor für Kieselsäure (si) ist grösser als 1. Das ist nur möglich, wenn Absolut-Basen aus dem Boden entfernt worden sind, was zeigt, dass es sich um eine endoperkolative oder eluviale Bodenbildung handelt.

In den Tropen bildet sich bei Regenfaktoren zwischen 60 und 100 erst der Quindíoboden, der dann früher oder später zum Humusboden degradiert. Dabei ändert sich der Humusgehalt, die Bodenreaktion und die Auswaschungsfaktoren. Es mag nun etwas überraschen, dass beide Bodentypen sich auch in der Schweiz bilden. Pallmann[1] beschreibt unter den schweizerischen Sukzessionsserien auch Walliser Schwarzerden, die wir mit dem Quindío- und Humusboden vergleichen wollen (Tab. III).

Die Quindíoböden haben mehr als 4% Humus und mehr als 10 MAe/100 g austauschbare Basen. Die Bodenreaktion liegt zwischen basisch und pH 5,5, so dass die Walliser Schwarzerden auf Karbonatgesteinen junge Quindíoböden sind. Auf basenärmern Silikatgesteinen sind sie offenbar bereits zum Humusboden degradiert, der hat 3–4% Humus, die Bodenreaktion liegt zwischen 6,5 und 5,5, und die Basen sind im Boden angereichert, wie eindeutig aus den Analysen hervorgeht. «Schwache Elektrolytenanreicherung gegen die Erdoberfläche» trifft also auch für die Humusböden zu. Diese sind offenbar die Klimabodentypen des semihumiden Klimas der Tropen und der gemässigten Zone, aber in den Lehrbüchern und offiziellen Bodenklassifikationen wird man diesen Bodentyp umsonst suchen, da der Tschernosem seinen Platz einnimmt.

Nun ist aber der Tschernosem auch baumfeindlich, wie die Savannen der Tropen, die sich nach der An-

[1] R. Lang, Fortschritte der Min., Krist. Petr. *7* (1922).

[2] H. Harrassowitz, *Böden der tropischen Region.* E. Blanck: *Handbuch der Bodenlehre* (J. Springer, Berlin 1930).

[3] P. Niggli, Geol. Rundschau *39*, 8 (1951).

[1] H. Pallmann, Ernähr. Pflanz. *30*, 225 (1934).

Tabelle I. – Bodenbildung auf Kalk und Tschernosem

	si	al	fm	c	alk	Ort
Boden[2]	589	36	26	27	11	Süd-Limburg
Gestein	9	0,5	2,5	96,5	0,5	
Auswaschungsfaktor	65	72	10,4	0,28	22	
Boden[2]	163	60,5	34,25	5	0,25	Java
Kalk	0,5	7	1	92	Sp.	
Auswaschungsfaktor	326	8,64	34,25	0,05	∞	
Tschernosem[1]	533	46,5	22	8,5	23	Kansas
Gestein	342	41,5	27	16	15,5	
Auswaschungsfaktor	1,57	1,12	0,81	0,53	1,48	

[1] H. Jenny, Bodenkundl. Forschg. *1*, 3 (1929). [2] P. Schaufelberger, Z. Pflanzenernährung usw. *57*, 121 (1952).

Tabelle II. – Aussertropische Humusböden

	si	al	fm	c	alk	Ort
Boden[1]	675	51,5	20,5	7,5	20,5	Nebraska
Gestein	571	50	27,5	6	16,5	
Auswaschungsfaktor	1,17	1,03	0,74	1,25	1,24	
Boden[1]	626	45,5	24,5	9	21	Minnesota
Gestein	501	45	27,5	7,5	20	
Auswaschungsfaktor	1,25	1,01	0,89	1,20	1,05	
Boden[1]	885	35	33	6,5	25,5	N. Carolina
Gestein	389	55	29	0	16	
Auswaschungsfaktor	2,27	0,63	1,14	∞	1,59	
Boden[2]	101	9,5	76	13,5	1	Zypern
Serpentin	66	2,5	97	0	0,5	
Auswaschungsfaktor	1,53	3,8	0,78	∞	2	
Boden[2]	557	47	25,5	9,5	18	Carrington
Gestein	459	47	31	5	16	
Auswaschungsfaktor	1,21	1,00	0,82	1,9	1,12	
Boden[2]	364	48	35,5	6,5	10	Ungarn
Gestein	376	48,5	38,5	4	9	
Auswaschungsfaktor	0,97	0,99	0,92	1,63	1,11	

[1] H. Jenny, Bodenkundl. Forschg. *1*, 3 (1929). [2] P. Schaufelberger, Z. Pflanzenernährung usw. *57*, 121 (1952).

Tabelle III. – Walliser Schwarzerden[1]

Walliser Schwarzerde	Quindioboden	Humusboden
Regenfaktor: unter 90	60–100	60–100
Muttergestein: Silikat- und Karbonatgestein	Karbonat	Silikat
Schwache Elektrolytenanreicherung gegen die Erdoberfläche	Mehr als 10 MAe/100 g austauschbare Basen	Basenanreicherung im Boden
Keine Sesquioxydverschiebung	Keine Sesquioxydverschiebung	
Humusgehalt: 3–10%	4–23%	3–4%
Reaktion: alkalisch bis schwach sauer	alkalisch bis 5,5	6,5–5,5

[1] P. Schaufelberger, Schweiz. Min. Petr. Mitt. *30*, 238 (1950).

schauung der gemässigten Zone im «wechselfeuchten» Klima bilden sollen. Im warmen, semihumiden Tropenklima finden wir den «hochstämmigen, immergrünen Laubwald der immerfeuchten Tropen» bei jährlichen Niederschlägen zwischen 140–250 cm, und die Trockenzeit kann 0–5 aride Monate zählen. In Ebenen desselben Klimas findet man Wald oder Savannen. Diese bilden sich, wenn der Boden zeitweise nass ist, und dann wird er baumfreundlich. Wie steht es nun in dieser Hinsicht mit dem Tschernosem. In den Lehrbüchern der Bodenkunde findet man keine Auskunft auf diese Frage. Nach einer mündlichen Mitteilung[1] ist der Tschernosem in Russland zeitweise nass. Neuerdings schreibt auch Stremme[2] über den Tschernosem: «Er ist zeitweise nass. Dadurch erhält der Humus die tiefschwarze Farbe. In der Sowjetunion ist es genau so.» H. Stremme in Kiel

[1] Ich verdanke sie Herrn Prof. Dr. H. Wilhelmy in Kiel.
[2] H. Stremme, *Bodenkunde und Bodenkultur* (Bibliographisches Institut VEB, Leipzig).

verdanke ich folgende briefliche Mitteilung: «Über die zeitweise Nässe, besonders der russischen Schwarzerde, möchte ich ein paar Worte schreiben. Für die russischen Tschernoseme ist charakteristisch, dass sie eine lange Periode während des Jahres biologisch untätig sind, vor allem durch den Bodenfrost im langen, bis 6 Monate und länger andauernden Winter. Zweimal im Jahre sind diese Böden kurze Zeit (u.a. weniger als 4 Wochen) im Herbst und Frühjahr extrem durchfeuchtet.»

Aus diesen Tatsachen geht einwandfrei hervor, dass der Tschernosem zeitweise nass ist und die Hydrologie seine Bildung beeinflusst. Er gehört also auch zu den Hydrosolen. Wie der Chemismus zeigt, gehört er aber ebenfalls zu den Litosolen über basenreichen Muttergesteinen, er ist also ein Hydrolitosol und kann daher unmöglich ein Klimabodentyp sein.

P. SCHAUFELBERGER

Bodenkunde-Institut des Kolumbianischen Kaffeebauern-Verbandes, Chinchiná, den 15. Juni 1953.

Summary

Apart from climate, there is also a mother stone rich in bases which is involved in the formation of *chernozem*, so that this hydrolitosol cannot possibly be a climate soil type.

In Columbia, under conditions of normal drainage and rain factors between 60 and 100, the humus soil formed is enriched with alkalis and calcium in the soil. Under the same rain factors in U.S.A., Cyprus, Hungary, and Switzerland, soils are found with the same chemistry. This humus soil is apparently the climate soil type for semi-humid climates.

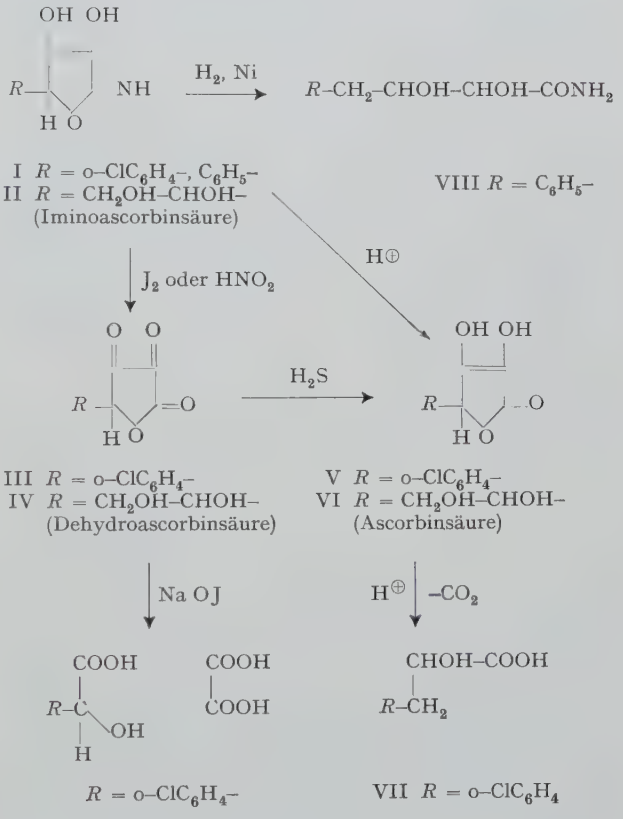
Über eine neue Herstellung aromatisch substituierter Reduktone

Vor einigen Jahren beobachtete der eine von uns (H.D.), dass Benzaldehyd, Glyoxalbisulfit und Cyanid in wässrig-alkalischem Milieu, am besten in Gegenwart eines Lösungsvermittlers, wie Dioxan, bei Zimmertemperatur in wenigen Stunden eine schwerlösliche farblose Verbindung liefern, die aus je einem Mol Benzaldehyd, Glyoxal und HCN zusammengesetzt ist. Analoge Verbindungen entstehen aus anderen aromatischen oder heterocyclisch-aromatischen Aldehyden, zum Beispiel Chlorbenzaldehyd, Nitrobenzaldehyd, Anisaldehyd, Piperonal, Naphthaldehyd, Terephthalaldehyd, Furfurol oder Pyridinaldehyd; die Ausbeuten liegen bei sorgfältiger Wahl der Reaktionsbedingungen zwischen 80 und 95%.

Die Strukturaufklärung wurde am Produkt aus o-Chlorbenzaldehyd durchgeführt und ergab die Formel I (R = o-Chlorphenyl) eines 4-Phenyl-2-oxytetronimids. Der Fünfring in I ist der gleiche wie in der Iminoascorbinsäure (II), dem Zwischenprodukt bei der Synthese der Ascorbinsäure nach der Oson-Blausäure-Methode[1]. In Übereinstimmung damit zeigt I das starke Reduktionsvermögen eines Reduktons, zum Beispiel gegen Jod in saurer Lösung, gegen $AgNO_3$ und gegen TILLMANS' Reagens (Dichlorphenol-indophenol); dieses ist der stabilen Endiolgruppierung –C(OH)=C(OH)–C=NH zuzuschreiben. Bei der Oxydation mit 1 Mol wässriger Jodlösung wird die Endiolgruppe oxydiert, während gleichzeitig die Iminogruppe als Ammoniak hydrolytisch abgespalten wird. Das entstandene 4-Phenyl-2, 3-diketo-4-oxybuttersäurelacton (III) entspricht der auf analogem Wege erhältlichen Dehydroascorbinsäure (IV); III entsteht aus I auch durch Einwirkung von salpetriger Säure, wobei die Iminogruppe quantitativ als N_2 abgespalten wird. III lässt sich durch H_2S in ein stark reduzierendes Endiol, die 4-o-Chlorphenyl-2-oxytetronsäure (V), zurückverwandeln, die in ihrem Ringsystem der Ascorbinsäure (VI) entspricht. V entsteht auch aus I durch saure Verseifung, doch schliesst sich an diese Reaktion leicht eine Decarboxylierung an, bei der o-Chlorphenyl-milchsäure (VII) entsteht.

Die Dehydroverbindung III verbraucht in alkalischem Milieu ein weiteres Mol Jod und wird dabei in o-Chlormandelsäure und Oxalsäure gespalten; diese Produkte beweisen den Bau des C-Gerüstes von I.

Im Gegensatz zur Iminoascorbinsäure (II) sind die Verbindungen vom Typus I ohne Schwierigkeit katalytisch zu hydrieren. Dabei entsteht zum Beispiel aus 4-Phenyl-oxytetronimid (I; R = Phenyl) unter Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff in guter Ausbeute das Amid der γ-Phenyl-α, β-dioxy-buttersäure (VIII).



Die mit anderen Aldehyden entstehenden Reduktone besitzen analogen Bau (I, R = Phenyl, Nitrophenyl, Methoxyphenyl, Methylendioxyphenyl, Naphthyl, Furyl, Pyridyl) und ähnliche Eigenschaften; im Terephthalaldehyd reagieren beide Aldehydgruppen unter Ausbildung von zwei Reduktonringen. – Verwendet man statt der molaren Mengen der Komponenten die doppelte Menge an aromatischem Aldehyd, so erhält man unter sonst gleichen Bedingungen schwer lösliche Reduktone, die aus 2 Aldehyd, 1 Glyoxal und 1 HCN zusammen-

[1] T. REICHSTEIN, A. GRÜSSNER und R. OPPENAUER, Helv. chim. Acta *16*, 561 (1933). – W. N. HAWORTH und E. L. HIRST, J. Soc. chem. Ind. *52*, 645 (1933).

gesetzt sind und in denen Sechsringe angenommen werden; hierüber soll später berichtet werden.

H. Dahn, J. S. Lawendel,
E. F. Hoegger, R. Fischer und
E. Schenker

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel, den 2. April 1954.

Summary

Equimolecular amounts of an aromatic or hetero-cyclic aldehyde, glyoxal and cyanideion combine in slightly alkaline aqueous solution to give 4-aryl-2-hydroxy-tetronimides (I). These are cyclic reductones comparable to imino-ascorbic acid. Oxidation yields dehydro compounds (III) (4-aryl-2,3-dioxo-4-hydroxy-butyric acid lactones); hydrolysis gives 4-aryl-2-hydroxy-tetronic acids (V) which are easily decarboxylated to β-aryl-lactic acids (VII). On hydrogenation, the compounds I are converted to γ-aryl-α, β-dihydroxy-butyramides.

Serpine – a New Isomeride of Yohimbine Isolated from *Rauwolfia serpentina* Benth.

Isolation of more than a dozen of alkaloids from the roots of *Rauwolfia serpentina* Benth. have already been reported by various workers[1] including the present authors as shown in the Table:

[1] Sea notes 1–13 of the Table.

Another new alkaloid, serpine, has been isolated from the same plant material. Its isolation, properties, spectral analyses (ultraviolet and infrared), chemical constitution and pharmacology are discussed in the present publication.

The alkaloid, serpine, has been isolated from an alcoholic extract of the roots of *Rauwolfia serpentina* Benth. of Cochin variety in which ajmaline is entirely absent. Serpine (yield, 0·02% calculated on the weight of the dry roots) is a weak base, crystallises from ethylacetate in fine needles, m.p. 213°, and is highly soluble in all organic solvents. It is optically active and dextrorotatory, $[\alpha]_D^{20°} = +\ 70{\cdot}1°$ (in pyridine). The analytical data of the base is in conformity with the molecular formula $C_{21}H_{26}O_3N_2$ (Calculated for $C_{21}H_{26}O_3N_2$: C, 71·19; H, 7·34. N, 7·91; OCH_3, 8·76. Found: C, 71·10, 71·55; H, 7·54, 7·40; N, 7·95, 7·7; OCH_3, 8·76, 8·74%). The base is free from methylene-di-oxy, $>NCH_3$ or $>C\cdot CH_3$ groups. With concentrated sulphuric acid and with some other alkaloidal reagents serpine gives color reactions characteristic for those of tetrahydro-β-carbolines and Yohimbine[2], $C_{21}H_{26}O_3N_2$.

The ultraviolet absorption spectrum of serpine resembles that of yohimbine and rauwolscine[1]. It shows the absorption maxima at 227, 283, 290 mμ and minima at 248, and 288 mμ respectively. The I.R.-absorption spectrum of the base studied in Nujol mull with Perkin-Elmer spectrophotometer shows sharp bands at 2·75 μ for

[1] Zechmeister's Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe *10*, 390 (1953).

Names	M.P	Mol. formulae	Names	M.P.	Mol. formulae
Ajmaline[1]	159–160°	$C_{20}H_{26}O_2N_2$	Rauwolfinine[5]	235–236°	$C_{19}H_{26}N_2O_2$
Ajmalinine[2]	180–181°	$C_{20}H_{26}O_3N_2$	Serpinine[6]	315°	–
Ajmalicine	250–252°	–	Reserpine[7]	263–265°	$C_{33}H_{40}O_9N_2$
Serpentine[3, 13]	157–158°	$C_{21}H_{20}O_3N_2$	Sarpagine[8]	>320°	$C_{19}H_{22}N_2O_2$
Serpentinine[2]	263–265°	$C_{20}H_{20}O_5N_2$	Raupine[9]	325°	$C_{20}H_{26}O_3N_2$
A new alkaloid[2]	220°	–	*Reserpinine[10, 11, 13]	238–239°	$C_{22}H_{26}N_2O_4$
			A new alkaloid[11]	247–248°	$C_{21}H_{25}N_2O_3$
An amphoteric alkaloid	234°	–	Rauhimbine[12]	–	$C_{21}H_{26}N_2O_3$
			Isorauhimbine[12]	–	$C_{21}H_{26}N_2O_3$
Neoajmaline	205–207°	$C_{20}H_{26}O_2N_2$	*Yohimbine	234°	$C_{21}H_{26}O_3N_2$
Isoajmaline[4]	264–266°	$C_{20}H_{26}O_2N_2$	*Alloyohimbine	(B·H_2O) 135–136°	$C_{21}H_{26}O_3N_2$
			**Raubasine	–	–
			γ-Yohimbine[13]	258–259°	$C_{21}H_{24}O_3N_2$

[1] S. S. Siddiqui and R. H. Siddiqui, J. Ind. Chem. Soc. *8*, 667 (1931); *9*, 539 (1932); *12*, 37 (1935). – L. van Itallie and A. J. Steenhauer, Arch. Pharm. *270*, 311 (1932). – D. Mukherji, E. Schlittler, and R. Robinson, Exper. *5*, 215 (1949). – A. Chatterjee and S. Bose, Exper. *9*, 254 (1953); J. Ind. Chem. Soc. *31*, 17 (1954).

[2] S. S. Siddiqui and R. H. Siddiqui, J. Ind. Chem. Soc. *8*, 667 (1931); *9*, 539 (1932); *12*, 37 (1935).

[3] S. S. Siddiqui and R. H. Siddiqui, J. Ind. Chem. Soc. *8*, 667 (1931); *9*, 539 (1932); *12*, 37 (1935). – L. van Itallie and A. J. Steenhauer, Arch. Pharm. *270*, 311 (1932). – E. Schlittler and H. Schwarz, Helv. chim. Acta *33*, 1463 (1950). – F. Bader and H. Schwarz, Helv. chim. Acta *35*, 1594 (1952).

[4] L. van Itallie and A. J. Steenhauer, Arch. Pharm. *270*, 311 (1932). – S. S. Siddiqui, J. Ind. Chem. Soc. *16*, 421 (1939).

[5] S. Bose, Science and Culture *18*, 98 (1952); J. Ind. Chem. Soc. *31*, 47 (1954).

[6] S. Bose (in press).

[7] J. M. Müller, E. Schlittler, and H. J. Bein, Exper. *8*, 338 (1952). – A. Fürlenmeier, R. Lucas, H. B. MacPhillamy, J. M. Müller, and E. Schlittler, Exper. *9*, 331 (1953). – L. Dorfman, C. F. Huebner, H. B. MacPhillamy, E. Schlittler, and A. F. St. André, Exper. *9*, 368 (1953). – N. Neuss, H. E. Boaz, and J. W. Forbes, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 4870 (1953). – M. W. Klohs, M. D. Draper, F. Keller, and F. G. Petracek, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 4867 (1953); Reserpine has also been isolated from *Rauwolfia heterophylla:* C. Djerassi, M. Gorman, and A. L. Nussbaum, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 5446 (1953). – L. Dorfman *et al.*, Helv. chim. Acta *37*, 59 (1954).

[8] A. Stoll and A. Hofmann, Helv. chim. Acta *36*, 1143 (1953).

[9] K. Bodendorf and H. Edner, Naturwiss. *40*, 342 (1953).

[10] E. Schlitter, H. Saner, and J. M. Müller, Exper. *10*, 133 (1954).

[11] A. Popelak, H. Spingler, and F. Faiser, Naturwiss. *40*, 625 (1953).

[12] A. Hofmann, Helv. chim. Acta *37*, 314 (1954).

[13] J. L. Weisborn, M. Moore, and P. A. Diassi, *Chem. and Ind.* (London), 375 (1954) (Added in the proof).

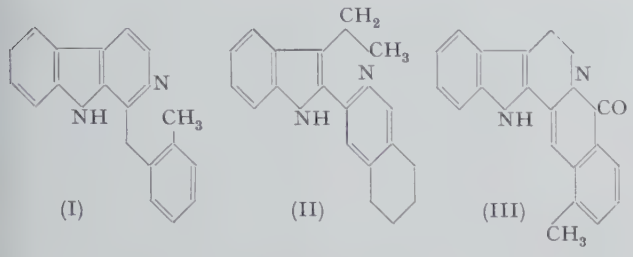
* In a discussion on Rauwolfia alkaloids at the Forty-First Session of the Indian Science Congress at Hyderabad on January 7, 1954, Dr. E. Schlittler of Ciba Pharmaceutical Products, Inc., New Jersey, U.S.A., informed us about the presence of these three alkaloids in *R. serpentina* isolated by his research collaborators.

** Isolation of this alkaloid has been reported to us by Dr. G. Haack, C. F. Boehringer und Söhne, GmbH., Mannheim-Waldhof, Germany, in a private communication.

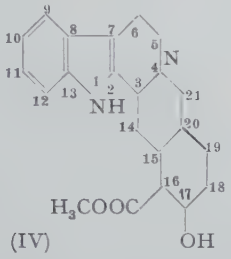
hydroxyl, 2·95μ for $>$NH and 5·80 μ for carbomethoxy groups.

The alkaloid serpine containing two atoms of nitrogen is a monoacidic tertiary base and produces crystalline salts like hydrochloride, B·HCl, m.p. 263–64° dec., hydrobromide, B·HBr., m.p. 275–6°, dec., and picrate, m.p. 186°, dec.

On dehydrogenation with selenium, serpine yields yobyrine, $C_{19}H_{16}N_2$ (I), the so-called "tetrabyrinet", $C_{19}H_{20}N_2$ (II) and ketoyobyrine, m.p. 316°, $C_{20}H_{16}ON_2$ (III). These three compounds have been isolated



in pure state by the method of chromatographic adsorption over alumina using benzene as an eluent. Isolation of these degradation products from serpine by selenium dehydrogenation establishes the following structure of serpine (IV), the position of its hydroxyl group being in C_{17} as settled by OPPENAUER oxidation.



(IV)

Formation of ketoyobyrine from serpine during its selenium dehydrogenation postulates that the carbomethoxy group in serpine should be allocated in 16 position according to WOODWARD and WITKOP's observations[1].

From the studies of hydrolysis experiments of serpine, its infrared spectrum and OPPENAUER oxidation products, it is suggested that both the carbomethoxyl and hydroxyl groups in serpine are polar and the configuration of serpine at C_3, C_{15}, and C_{20} is probably the same as that in ψ-yohimbine.

Further investigations on the stereochemistry of serpine are in progress.

Serpine is markedly hypotensive but this hypotensive action does not persist long. It has a strong sympathicolytic action like yohimbine.

ASIMA CHATTERJEE (Neé Mookerjee) and S. BOSE

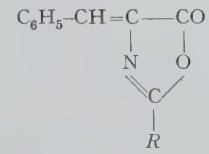
Department of Pure Chemistry, University College of Science and Technology, Calcutta, February 13, 1954.

Zusammenfassung

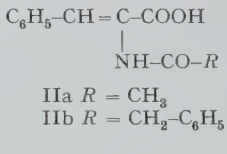
Aus *Rauwolfia serpentina* Benth. wurde das neue Alkaloid Serpin, $C_{21}H_{26}O_3N_2$, Smp. 213–14°, isoliert. Es ist mit Yohimbin isomer. Das Alkaloid enthält eine –OH- und eine $-COOCH_3$-Gruppe. Das I.R.-Spektrum des Serpins zeigt die typische –COOMe-Bande (5,80 μ). Eine Iminogruppierung –NH wird durch die intensive 2,95-μ-Bande verursacht. Bei der Bande bei 2,75 μ handelt es sich um eine Hydroxyl-Gruppierung. Nach seinem UV.-Spektrum und IR.-Spektrum handelt es sich um ein Indolalkaloid. Durch Dehydrierung des Serpins mit Selenstaub wurde *Yobyrin*, das sogenannte «*Tetrabyrin*» und *Ketoyobyrin* gebildet. Aus diesen Spaltstükken ergab sich die Konstitutionsformel des Serpins.

2-Styryl-4-benzal-oxazolon-(5) als hartnäckiger Begleiter von 2-Methyl-4-benzal-oxazolon-(5)

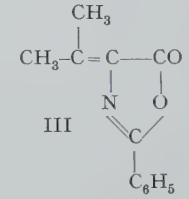
2-Methyl-4-benzal-oxazolon-(5) (Ia) wird in der Literatur in vielen Fällen als gelb[1], seltener als fast oder ganz farblos beschrieben[2]. WEITNAUER[3] teilte der farblosen Form eine α-Laktam-Formel, der gelben die eigentliche Azlakton-Formel Ia zu. Demgegenüber stellten wir nun fest, dass das Azlakton in reiner Form farblos ist; die Gelbfärbung des durch Erlenmeyersche Azlakton-Kondensation gewonnenen Produkts[4] (Smp. 149–151°) rührt, wie mit UV.-Absorptionsspektren nachgewiesen (vgl. Tabelle) und durch Isolierung bestätigt werden konnte, von einer etwa zweiprozentigen Beimengung von 2-Styryl-4-benzal-oxazolon-(5) (Ib) her, das sich seines ähnlichen Verhaltens wegen erst durch Kombination von fraktionierter Kristallisation und fraktionierter Sublimation abtrennen liess. Der so isolierte Stoff war mit dem aus Cinnamoylglyzin und Benzaldehyd synthetisierten 2-Styrylazlakton Ib (Smp. 133–134°) identisch. Trotz der relativ grossen Smp.-Differenz vermochte ein fünfprozentiger Zusatz dieses Azlaktons zu reinem 2-Methyl-azlakton Ia dessen Smp. (152–153°) nicht wesentlich zu erniedrigen (Misch-Smp. 149–151°).



Ia $R = CH_3$
Ib $R = CH{=}CH{-}C_6H_5$
Ic $R = C_6H_5$
Id $R = CH_2{-}C_6H_5$



IIa $R = CH_3$
IIb $R = CH_2{-}C_6H_5$



III

Farbloses, reines 2-Methyl-4-benzal-oxazolon-(5) (Ia) erhielten wir glatt aus α-Azetamido-zimtsäure (IIa) mit Chlorkohlensäure-äthylester[5]. Ein Vergleich mit den Azlaktonen Ic und III zeigt, dass das 2-Methyl-azlakton

[1] R. B. WOODWARD and B. WITKOP, J. Amer. Chem. Soc. *70*, 2409 (1948).

[1] Vgl. Literaturzusammenstellung bei H. E. CARTER, Org. Reactions *3*, 198 (1946).

[2] E. ERLENMEYER und E. FRÜSTÜCK, Liebigs Ann. Chem. *284*, 36 (1895). – M. BERGMANN und D. DELIS, Liebigs. Ann. Chem. *458*, 76 (1927). – C. G. ALBERTI und A. VERCELLONE, La Chimica e L'Industria (Milano) *33*, 359 (1951).

[3] G. WEITNAUER, Gazz. chim. ital. *81*, 156 (1951); vgl. dazu G. HELLER und H. LAUTH, Ber. dtsch. chem. Ges. *52*, 2295 (1919), und *The Chem. of Penicillin* (Princeton University Press, Princeton 1949), S. 735 und 788.

[4] R. M. HERBST und D. SHEMIN, Org. Syntheses, Coll. *2*, 1 (1943).

[5] M. BRENNER und K. RÜFENACHT, Helv. chim. Acta *27*, 203 (1954).

Ia gar nicht gelb sein kann: im *farblosen* 2-Phenyl-4-isopropyliden-oxazolon-(5) (III) steht *eine* Phenylgruppe mit dem Alkyliden-oxazolon-System in Konjugation. Im nur *hellgelben* 2-Phenyl-4-benzal-oxazolon-(5) (Ic) tragen zwei Phenylkerne zur Farbvertiefung bei. Die 2-Methyl-4-benzal-Verbindung Ia mit ihrem einzigen, allerdings in anderer Stellung stehenden Phenylkern kann, wie die UV.-Absorptionsspektren bestätigen, höchstens eine Mittelstellung einnehmen (in dicker Schicht blass grünlichgelber Oberflächenglanz der Kristalle).

Absorptionsmaxima von Azlaktonen in Äther[1]

–oxazolon–(5)	Maximum 1		Maximum 2	
	$\lambda_{max.}$ in mμ	log ε	$\lambda_{max.}$ in mμ	log ε
2-Phenyl-4-isopropyliden- . .	309	4,44	234,5	4,12
2-Methyl-4-benzal- (farblos, rein)	327	4,46	231	3,88
2-Methyl-4-benzal- (gelb, unrein)*	327	4,50	232	3,90
2-Benzyl-4-benzal-	330,5	4,63	231,5	4,07
2-Phenyl-4-benzal-	360	4,64	260	4,25
2-Styryl-4-benzal-	374	4,79	289	4,37

* Die als Verunreinigung vorhandene 2-Styryl-Verbindung verursacht ein zusätzliches Maximum bei 373 mμ mit log ε = 2,81.

Die Bildung des 2-Styryl-azlaktons Ib scheint auf einer zusätzlichen Kondensation der 2-Methylgruppe des 2-Methyl-azlaktons Ia mit überschüssigem Benzaldehyd zu beruhen. Die Methylgruppe wird durch das heterozyklische System zu einem gewissen Grad aktiviert: farbloses 2-Methyl-azlakton Ia lieferte mit Benzaldehyd und $ZnCl_2$ bei 130° 2-Styryl-azlakton Ib (Ausb. 18%); eine solche Umsetzung kann in geringerem Mass wohl auch unter den milderen Bedingungen der Azlakton-Kondensation erfolgen.

Auch das 2-*Benzyl*-4-benzal-oxazolon-(5) (Id), das Erlenmeyer und Kunlin[2] aus Phenazetursäure und Benzaldehyd als gelbe Platten erhalten hatten, sollte farblos sein, da sein System konjugierter Doppelbindungen mit dem der 2-Methyl-Verbindung Ia identisch ist (keine Konjugation zum zusätzlichen Phenylkern der Benzylgruppe). Tatsächlich gab die durch Aufspaltung des rohen, gelben Azlaktons gewonnene α-Phenylazetamido-zimtsäure (IIb) mit Azetanhydrid ein praktisch farbloses Azlakton Id (Smp. 106–107°), dessen UV.-Absorptionsspektrum erwartungsgemäss demjenigen der 2-Methyl-Verbindung Ia sehr ähnlich ist.

K. Rüfenacht

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel, den 22. Februar 1954.

Summary

In the pure state 2-methyl-4-benzal-oxazolone-5 and 2-benzyl-4-benzal-oxazolone-5 are both colourless. The yellow 2-methyl-azlactone prepared by azlactone synthesis is contaminated with 2-styryl-4-benzal-oxazolone-5 which has obviously been formed from the 2-methyl-azlactone with excess benzaldehyde in an additional condensation reaction.

[1] Vgl. E. L. Bennett und E. Hoerger, Amer. Soc. *74*, 5975 (1952). – Die UV.-Absorptionsspektren wurden von Herrn Dr. P. Zoller, Org. Chem. Anstalt der Universität Basel, auf einem Unicam-Spektrophotometer, Modell SP 500, aufgenommen.

[2] E. Erlenmeyer und J. Kunlin, Liebigs Ann. Chem. *307*, 163 (1899).

Activité staphylostatique de composés du groupe des benzophénarsazines

A part l'activité sternutatoire intense de la 10-chloro-9,10-dihydrophénarsazine (adamsite) qui a fait utiliser ce corps comme «gaz» de combat au cours de la première guerre mondiale[1], les propriétés biologiques des substances appartenant au groupe de la phénarsazine ont été rarement étudiées jusqu'à présent. L'analogie de structure entre les benzophénarsazines angulaires[2] et les benzacridines cancérigènes avait amené Lacassagne, Buu-Hoï, Royer et Rudali[3] à examiner l'action de quelques-unes de ces benzophénarsazines sur la peau de la souris, et ces auteurs ont reconnu à certains de ces corps une activité oncogène nette quoique faible (épilation, hyperkératose, production de papillomes bénins). Parmi les substances polycycliques cancérigènes connues, le 3,4-5,6-dibenzocarbazole (I), structurellement voisin des benzophénarsazines angulaires, possède une activité antibactérienne intense vis-à-vis du staphylocoque[4]. Nous avons donc pensé qu'il était intéressant de rechercher si les benzophénarsazines angulaires possèderaient, elles aussi, des propriétés antibactériennes.

La technique expérimentale que nous avons utilisée est la suivante: les substances à étudier sont mises en solution dans l'éthanol, puis diluées en bouillon nutritif, de manière à obtenir des concentrations de 10 et 1 γ/ml. Les bouillons contenant 10 et 1 γ/ml sont ensemencés, d'une part, avec une goutte d'une culture d'*Escherichia coli*, âgée de 18 h et diluée au 1/10^e, d'autre part, avec une goutte d'une dilution identique d'une culture analogue de *Micrococcus pyrogenes* var. *aureus*. Les cultures sont mises en incubation à 37°, et examinées journellement durant 3 ou 4 jours; leur développement est estimé par appréciation visuelle du trouble. Dans les cas où une inhibition persistante de croissance a été observée en présence de 10 γ/ml de la substance étudiée, un second essai a été fait comme suit: des bouillons contenant 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25 et 0,62 γ/ml de substance sont ensemencés, incubés et examinés comme ci-dessus pour déterminer avec plus de précision la concentration inhibitrice minimale.

Dans ces conditions, 6 substances examinées ont donné les résultats suivants:

Sur le staphylocoque, la 2'-(1-méthylcyclohexyl)-10-chloro-9,10-dihydro-3,4-benzophénarsazine (II) produit un retard de croissance aux concentrations de 10 γ/ml et 1 γ/ml, son dérivé 6-méthylé (III) est staphylostatique aux concentrations supérieures à 10 γ/ml, et la 10-chloro-9,10-dihydro-3,4-5,6-dibenzophénarsazine(IV) est active à la concentration de 5 γ/ml. Le remplace-

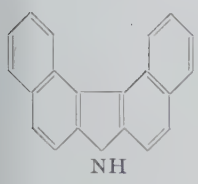
[1] Voir J. Meyer, *Der Gaskampf und die chemischen Kampfstoffe*, 3^e édit. (Leipzig 1938), p. 338. – O. Muntsch, *Leitfaden der Pathologie und Therapie der Kampfstofferkrankungen*, 4^e édit. (Leipzig 1936), p. 102.

[2] N. P. Buu-Hoï, H. K. Wei et R. Royer, Rev. sci. *82*, 453 (1944). – N. P. Buu-Hoï, H. Le Bihan et F. Binon, J. Org. Chem. *16*, 185 (1951).

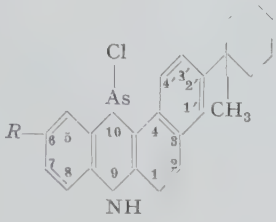
[3] A. Lacassagne, N. P. Buu-Hoï, R. Royer et G. Rudali, C. r. Soc. Biol. *145*, 1451 (1951).

[4] C. H. Browning et J. B. Cohen, Brit. Med. J. *2*, 695 (1921).

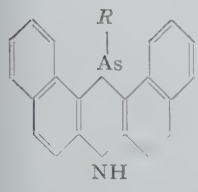
ment, chez ces composés, des atomes de chlore par des radicaux méthyles augmente l'activité, car la 2'-(1-méthylcyclohexyl)-10-méthyl-9,10-dihydro-3,4-benzophénarsazine (VI) et la 10-méthyl-9,10-dihydro-3,4-5,6-dibenzophénarsazine (V) sont staphylostatiques à la concentration de 1,25 γ/ml, et la 2'-(1-méthylcyclohexyl) 6,10-diméthyl-9,10-dihydro-3,4-benzophénarsazine(VII) l'est à la concentration de 2,5 γ/ml.



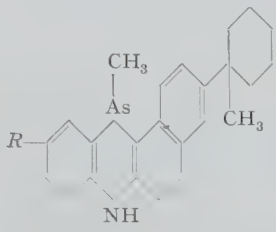
(I)



II; $R = H$
III; $R = CH_3$



IV; $R = Cl$
V; $R = CH_3$



VI; $R = H$
VII; $R = CH_3$

Par contre, aucune des 6 substances étudiées n'a montré d'activité bactériostatique vis-à-vis d'*Escherichia coli* à la concentration de 10 γ/ml.

En résumé, dans le groupe de benzophénarsazines angulaires, structurellement apparentées au 3,4-5,6-dibenzocarbazole, on trouve des composés possédant une activité bactériostatique élevée vis-à-vis du Staphylocoque. On est tenté de penser que, dans les deux cas, les récepteurs cellulaires attaqués pourraient être les mêmes.

N. P. Buu-Hoï et M. Welsch

Institut du Radium de l'Université de Paris et Institut de Bactériologie de l'Université de Liège, le 14 janvier 1954.

Summary

It is shown that certain compounds belonging to the group of angular benzophenarsazines display a high specific bacteriostatic activity towards *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*. This biological property provides a further ground of similarity between these compounds and one of their structural analogues, 3,4-5,6-dibenzocarbazole.

Aureomycin Inactivation by Pathogenic Bacteria

While several organisms have been reported to be resistant to aureomycin[1], there seems to be no reference in the literature regarding inactivation of aureomycin by bacteria[1]. However, the reversal of aureomycin inhibition of *Escherichia coli* by complex natural material has been shown recently[2]. During our studies on the effect of antibiotics in the growth medium on the elaboration of certain enzymes by *Vibrio cholerae*, it was observed that this organism grew well on a medium containing aureomycin in concentrations as high as 1:80,000. It was, therefore, considered of interest to find out whether aureomycin was being inactivated by certain substances produced by *V. cholerae* and if so whether this property was present in other pathogens also. The preliminary results obtained are reported in the present communication.

The procedure adopted for studying the inactivation of aureomycin by *V. cholerae* and other organisms was similar to Gots' method[3] for detection of penicillinase. 0·5 ml of 24 h old broth culture of *Staph. aureus* (Oxford) and the desired amount of aureomycin hydrochloride solution (1 mg/ml) were added to 100 ml of melted papain-meat agar (pH 7) at approximately 45°C, mixed thoroughly and dispensed in 12–15 ml lots into sterile petri dishes. 24 h old cultures of organisms under test were then streaked in the middle of the *Staph. aureus*-aureomycin-agar plate and incubated at 37°C. The growth of *Staph. aureus* in the vicinity of the streak was noted after 1, 2, and 3 days of incubation.

From the results presented in the Table, it would appear that the organisms inactivated aureomycin to different levels, as shown by the rapidity and extent of appearance of growth of *Staph. aureus* around the streaked organism. Under identical conditions, the control plates did not show any growth of *Staph. aureus*. In the case of *B. subtilis*, *Proteus X19H* and *Ps. aeruginosa*, it was also observed that the growth of *Staph. aureus* was inhibited in the immediate vicinity of the streak, due obviously to the production of substances inhibitory to the seeded organism.

It would also appear that the Gram negative organisms inactivated the antibiotic to a greater degree than the Gram positive ones. Of the organisms tested, the maximum inactivation was brought about by *Ps. aeruginosa* and *Proteus X19H*, which incidentally have been reported to be quite resistant to aureomycin[4]. The inactivation of aureomycin reported herein may be due either to the breakdown of aureomycin or to the elaboration of substances capable of blocking the inhibitory action of this antibiotic. The latter possibility would be in conformity with the recent findings of Foster and Pittillo[5], who have shown the reversal of aureomycin inhibition by a number of vitamins, amino acids and related compounds.

Further work on the nature of aureomycin inactivation is in progress.

S. N. Iyer, A. T. Dudani, and
D. L. Shrivastava.

Central Drug Research Institute, Lucknow, India, January 28, 1954.

[1] C. W. Price, W. A. Randall, and H. Welch, Ann. N. Y. Acad. Sci. *51*, 211 (1948). – T. M. Gocke and M. Finland, J. Lab. Clin. Med. *38*, 719 (1951). – J. C. Ransmeier, H. E. Brown, and N. Davis, J. Lab. Clin. Med. *38*, 620 (1951).

[1] T. F. Paine, Jr., H. S. Collins, and M. Finland, Ann. N. Y. Acad. Sci. *51*, 228 (1948); J. Bact. *56*, 489 (1948). – P. H. Long, Bull. N. Y. Acad. Med. *28*, 809 (1952).

[2] J. W. Foster and R. F. Pittillo, J. Bact. *65*, 361 (1953).

[3] J. S. Gots, Science *102*, 309 (1945).

[4] C. W. Price, W. A. Randall, and H. Welch, Ann. N. Y. Acad. Sci. *51*, 211 (1948). – J. C. Ransmeier, H. E. Brown, and N. Davis, J. Lab. Clin. Med. *38*, 620 (1951). – T. F. Paine, Jr., H. S. Collins, and M. Finland, Ann. N. Y. Acad. Sci. *51*, 228 (1948).

[5] J. W. Foster and R. F. Pittillo, J. Bact. *66*, 478 (1953).

Table.—Inactivation of Aureomycin by Pathogenic Bacteria

Test organism	Growth of *Staph. aureus* with aureomycin concentration							
	1:80,000			1:120,000			1:160,000	
	Days			Days			Days	
	1	2	3	1	2	3	1	2
Control	–	–	–	–	–	–	–	–
Escherichia coli	–*	–*	+ +	–*	–	+ + + +	–	+
Proteus X-19H**	–*	–	+ + + +	–	–	+ + + +	–	+ + +
*Pseudomonas aeruginosa***	–	–	+ + + +	–	–	+ + + +	–	+ + + +
Salmonella typhosa	–*	–*	+ +	–*	–	+ + + +	–	+ +
Salmonella typhosa –H 901	–*	–*	+	–*	–	+ + + +	–	+ +
Salmonella paratyphi A	–	±	+ +	–	+	+ + + +	–	+ +
Salmonella paratyphi B	–*	–	+	–*	–	+ + +	–	–
Shigella dysenteriae Shiga	–	±	+ + +	–	–	+	–	+
Shigella paradysenteriae Flexner	–	±	+ + +	–	–	+	–	+ +
Shigella sonnei	–*	–	+ +	–	–	+ + + +	–	+ +
Vibrio cholerae Ogawa	–	+	+ +	–	–	+ +	–	+
Vibrio cholerae Inaba	–	+	+ +	–	–	+ +	–	–
Water vibrio Water Tank	–	+	+ +					
*Bacillus subtilis***	–	–	–	–	–	+ +	–	–
Streptococcus faecalis	–*	–	–	–*	–	+ +	–	–
Streptococcus haemolyticus	–	–	–	–	–	–	–	–

* Insignificant growth of test organism.

** The growth of the streaked test organism was sorrounded by a zone of inhibition, followed by growth of *Staph. aureus*.

Zusammenfassung

Von 16 pathogenen Bakterien, die auf Inaktivierung des Aureomyzins nach einem Vorgang ähnlich von Gots' Methode des Penicillinase-Nachweises getestet wurden, waren 15 inaktivierend.

Über die Biosynthese des β-Carotins bei *Mucor hiemalis*. Die Beteiligung der Essigsäure am Aufbau des Carotinmoleküls, untersucht mit Hilfe C^{14}-markierter Essigsäure

Kürzlich haben wir darüber berichtet[1], dass mit C^{14}-markiertem Azetat die Beteiligung der Essigsäure an der Biosynthese des Carotins bei *Mucor hiemalis* und *Phycomyces blakesleeanus* sichergestellt werden konnte. Die quantitativen Bestimmungen mit methyl- und carboxyl-markiertem Azetat haben ergeben, dass die Methyl- und die Carboxylgruppe zu gleichen Teilen am Aufbau des β-Carotins teilnehmen[2]. Der prozentuale Anteil der Kohlenstoffatome der Essigsäure am gesamten Kohlenstoffbestand des β-Carotins ist derselbe, wenn die Mikroorganismen auf einer Nährlösung kultiviert werden, die als Kohlenstoffquelle Na-azetat und NH_4-laktat (das zugleich Stickstoffquelle ist) enthält, oder einer solchen, bei der das Azetat die einzige Kohlenstoffquelle darstellt [Stickstoffquelle ist $(NH_4)_2SO_4$][3].

Die nächsten Schritte unserer Untersuchungen gelten der Bestimmung der Positionen im Carotinmolekül, in welche die Methyl- bzw. die Carboxylgruppen der Essigsäure eingebaut werden. Die ersten Ergebnisse dieser Arbeiten sind hier in Kürze wiedergegeben. Diese betreffen die 4 seitenständigen Methylgruppen und ihre direkt benachbarten C-Atome der zwischen den beiden Jononringen liegenden Kette (siehe untenstehende Formel).

Die beschriebenen C-Atome finden wir nach dem oxydativen Abbau mit Permanganat nach Karrer und Helfenstein[1] als Essigsäure im Reaktionsgemisch. Dabei bildet die Methylgruppe des β-Carotins auch die Methylgruppe der Essigsäure. Die durch Oxydation gewonnene Essigsäure kann durch Decarboxylierung in zwei C_1-Komponenten zerlegt werden. Diese Decarboxylierung führten wir nach der Schmidtschen Reaktion durch (Nach Angaben von Schuerch und Huntress[2]), welche sich nach der Gleichung:

$$CH_3COOH + HN_3 = CH_3NH_2 + CO_2 + N_2$$

vollzieht. Die Methylgruppe der Essigsäure fällt als Methylamin an, während die Carboxylgruppe als CO_2 das System verlässt und in $Ba(OH)_2$ aufgefangen werden kann.

Für die Bildung des radioaktiven β-Carotins haben wir den *Mucor hiemalis* herangezogen, welchen wir auf einem Nährmilieu[3] mit Na-Azetat als einzige Kohlenstoffquelle gezüchtet haben. Um eine für die Spaltungsversuche ausreichende Menge radioaktiven β-Carotins von genügender Aktivität zu erhalten, sind 1000 Einzelkulturen, in Erlenmeyer von 150 cm³ Rauminhalt mit je 25 cm³ Nährlösung, notwendig. Aus diesen 1000 Kulturen gewinnen wir etwa 10 mg radioaktives β-Carotin, welches mit β-Carotin (aus Carotin «Roche» durch Umkristallisieren und Chromatographieren gewonnen) auf rund 80 mg verdünnt wird. Diese Menge gewährleistet

[1] E. C. Grob, G. G. Poretti, A. von Muralt und W. H. Schopfer, Exper. *7*, 218 (1951). – E. C. Grob, W. H. Schopfer und G. G. Poretti, Z. Vitaminforschg. *23*, 484 (1952). – E. C. Grob und W. H. Schopfer, II[e] Congr. int. Biochim. Paris, Rés. des Communications, S. 212 (1952).

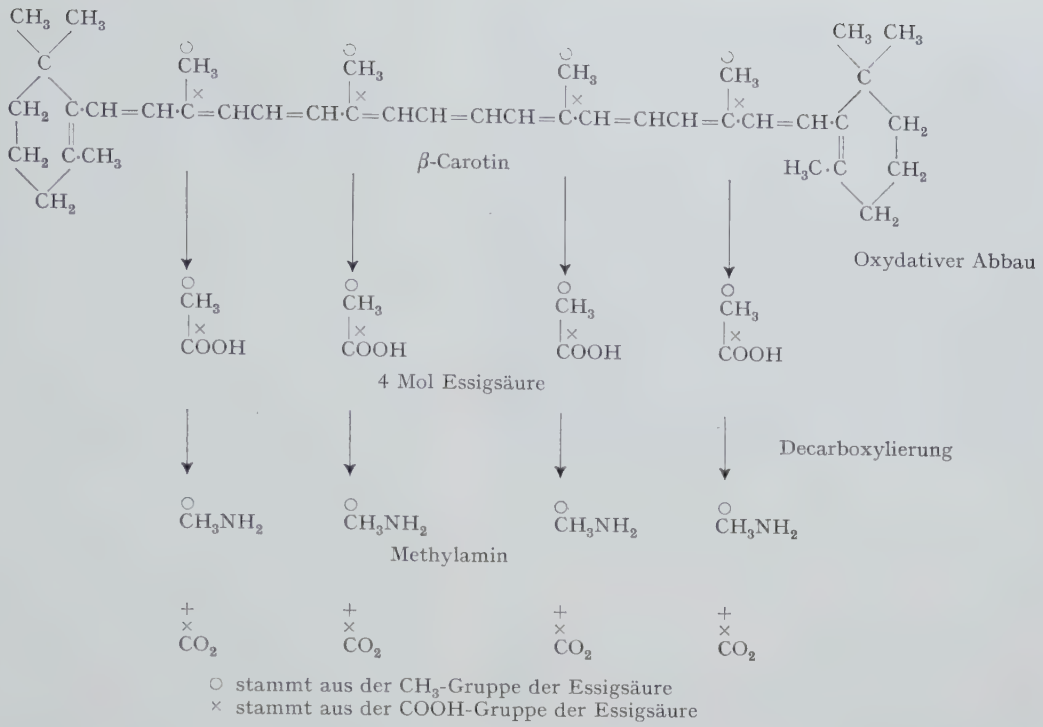
[2] E. C. Grob, W. H. Schopfer und G. G. Poretti, Z. Vitaminforschg. *23*, 484 (1952).

[3] W. H. Schopfer und E. C. Grob, Exper. *8*, 140 (1952).

[1] P. Karrer und A. Helfenstein, Helv. chim. Acta *12*, 1142 (1929).

[2] C. Schuerch und E. H. Huntress, J. amer. chem. Soc. *71*, 2233 (1949).

[3] W. H. Schopfer und E. C. Grob, Exper. *8*, 140 (1952).



eine genügende Radioaktivität, um auch die Bruchstücke noch mit Sicherheit zu bestimmen.

Durch die Zugabe von methylmarkiertem Azetat zur Nährlösung haben wir ein β-Carotin erhalten, welches nach dem oxydativen Abbau radioaktive Essigsäure liefert. Nach der Decarboxylierung der gewonnenen Essigsäure findet sich die gesamte Aktivität in der Methylgruppe (als Methylamin · HCl gemessen), währenddem die COOH-Gruppe (gemessen als $BaCO_3$) vollständig inaktiv ist.

Das β-Carotin, welches aus Kulturen, die sich in Gegenwart von carboxylmarkierter Essigsäure entwickelt haben, isoliert worden ist ergibt nach dem Permanganatabbau wiederum eine radioaktive Essigsäure. In diesem Falle aber finden wir die gesamte Aktivität in der Carboxylgruppe lokalisiert, währenddem die Methylgruppe keinerlei Radioaktivität aufweist.

Diese Versuche haben eindeutig ergeben, dass die seitenständigen Methylgruppen der aliphatischen Kette des β-Carotins ausschliesslich aus der Methylgruppe der Essigsäure stammen. Die 4 benachbarten Kohlenstoffatome, welche in der aliphatischen Kette eingebaut sind, werden durch die Carboxylgruppe der Essigsäure geliefert. Durch das untenstehende Schema wird das eben Gesagte veranschaulicht.

Diese Arbeit ist mit Unterstützung der «Fritz-Hoffmann-La-Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz» ausgeführt worden, der wir unseren besten Dank aussprechen.

E. C. Grob und R. Bütler

Botanisches Institut der Universität Bern, den 9. Februar 1954.

Summary

It has been demonstrated with labelled acetate, $C^{14}H_3 \cdot COONa$, $CH_3 \cdot C^{14}OONa$), that the methyl groups of acetic acid form the methyl groups of the chain between the two β-jonone rings of the β-carotene. The carboxylic groups of the acetic acid on the other hand form the neighbouring C-Atoms of the methyl groups.

Etude de la glucose-6-phosphatase dans la membrane chorioallantoïdienne traitée par des microsomes du foie

Les granules ribonucléoprotéiques du cytoplasme cellulaire, isolables par ultra-centrifugation, peuvent être comparés aux virus quant à la taille et à la composition chimique. Une telle comparaison se justifie mieux encore si on attribue aux microsomes une capacité d'autoduplication[1].

Afin d'éprouver de façon directe cette hypothèse, Shaver et Brachet[2] ont tenté de «cultiver» à la surface de la membrane chorioallantoïdienne d'embryons de poulet, des granules extraits de tissus embryonnaires. Mais ils n'ont pu déterminer si la prolifération cellulaire et l'augmentation de basophilie, qu'ils ont observés dans 86% des cas, sont dues à une multiplication des petits granules dans les cellules de l'hôte ou à une simple stimulation de la synthèse de l'acide ribonucléique déjà présent. Shaw et Shaver[3] ont, en outre, montré que le liquide surnageant de centrifugation, qui contient les microsomes, provoque une croissance plus intense que les mitochondries.

Afin de préciser si la prolifération cellulaire s'accompagne ou non d'une multiplication des microsomes inoculés, nous avons repris ces expériences en utilisant des microsomes du foie: ils se caractérisent, en effet, par la présence d'enzyme aisément dosable, la glucose-6-phosphatase[4].

Les microsomes ont été isolés à partir de foies d'embryons de poulets et mis en suspension dans une solution de saccharose 0,25 *M*. L'activité de la glucose-6-phosphatase a été suivie dans les microsomes isolés à partir

[1] R. Jeener, Biochim. biophys. Acta *8*, 270 (1952). – T. Hultin, Exp. Cell. Res. 1, 376 (1950).

[2] J. Shaver et J. Brachet, Exper. *5*, 235 (1949).

[3] E. I. Shaw et J. Shaver, Exper. *9*, 140 (1953).

[4] H. G. Hers, J. Berthet, L. Berthet et C. de Duve, Bull. Soc. Chim. biol. *33*, 21 (1951).

des membranes traitées: elles étaient prélevées 1 h, 24 h et 48 h après l'inoculation. L'activité enzymatique a été exprimée en γ de phosphore libéré à 38°C en 15 min, par 10 γ d'azote protéique des microsomes. Le phosphore a été dosé par la méthode de Kuttner[1] et l'azote par la méthode de Kjeldahl, après minéralisation. Les membranes utilisées comme témoins ont été inoculées avec un même volume de la solution de saccharose seule.

Contrairement à notre attente, la glucose-6-phosphatase s'est montrée présente en faible quantité dans les microsomes de la membrane chorioallantoïdienne normale. Son activité diminue d'ailleurs fortement au cours du développement embryonnaire. Si on attribue une valeur de 100% à l'embryon de 10 jours, l'activité tombe à 30–37% après 11 jours et à 6–10% après 12 à 13 jours.

Pour obtenir une mesure de l'activité enzymatique attribuable aux microsomes inoculés seulement, nous avons déduit de l'activité de la membrane traitée avec la suspension de microsomes la valeur trouvée pour la membrane témoin traitée en même temps. Voici l'essentiel des résultats obtenus:

1° L'activité enzymatique des microsomes diminue fortement au cours des 24 h qui suivent l'inoculation.

2° Dans cinq expériences sur six, l'activité de la phosphatase s'est montrée de deux à six fois plus élevée après 48 h qu'après 24. Dans le sixième cas, elle a continué à diminuer.

3° Une suspension de microsomes du foie, incubée stérilement à 38°C en tube à essai, perd la quasi-totalité de son activité phosphatasique en 48 h. L'autolyse ne provoque donc pas de libération de l'enzyme.

4° Une suspension de microsomes du foie portée à 80°C pendant 5 min perd son activité enzymatique et se montre incapable d'enrayer la chute de l'activité glucose-6-phosphatasique de la membrane chorioallantoïdienne. De même, quoi qu'elle soit capable d'activer la prolifération cellulaire de la membrane chorioallantoïdienne[2], une suspension de *Tétrahymèna géléii*, tués par chauffage à 50°C, est sans effet sur l'activité phosphatasique des microsomes de la membrane (Tableau).

Nature de l'inoculum	Activités enzymat. en γ P/10 γ N		
	1 h	24 h	48 h
Microsomes du foie d'embryons de poulet	0,16	0,15	0,32
			0,37
	0,16	0,04	0,08
	0,75	0,11	0,34
	—	0,13	0,78
Microsomes du foie chauffés à 80°C	0,008	0,009	—
Suspension de *Tétrahymèna*	—	—	0,030
			0,034
Témoin: solution de Chambers. .	—	—	0,048
			0,082

Notons encore que les granules du foie perdent 75% de leur glucose-6-phosphatase si on les laisse à 37°C pendant 1 h. Il est probable qu'une inactivation comparable se produise lorsque les microsomes sont déposés sur la membrane: la faible activité que l'on retrouve après 1 h d'incubation témoigne sans doute d'une «dilution» des microsomes du foie, actifs, par ceux de la membrane qui le sont beaucoup moins. La diminution de l'activité se prolonge jusqu'à 24 h environ, et elle atteint alors de 93 à 97 %; la perte observée lors de l'autolyse d'une suspension de microsomes est de 96% à ce moment-là.

L'augmentation d'activité de la phosphatase des microsomes de la membrane après 48 h est compatible avec une multiplication des particules inoculées à l'intérieur des cellules de la membrane.

En effet, la stimulation de la croissance de la membrane par un matériel dépourvu d'activité enzymatique ne suffit pas à provoquer la synthèse de la glucose-6-phosphatase dans les microsomes.

Les résultats acquis plaident donc en faveur de l'hypothèse d'une multiplication des microsomes au sein des cellules de la membrane chorioallantoïdienne; l'étude d'autres enzymes constitutifs des microsomes du foie nous paraît cependant indispensable avant qu'on ne puisse considérer cette hypothèse comme démontrée.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à M. A. Lwoff, qui a obligeamment mis à notre disposition la souche de *Tétrahymèna géléii* utilisée dans ce travail.

Mlle J. le Clerc

Laboratoire de morphologie animale, Faculté des sciences de l'Université libre de Bruxelles, le 20 février 1954.

Summary

In order to test the possibility for microsomes to multiply like viruses, microsomes of chick liver were inoculated on chorioallantoïc membranes. The glucose-6-phosphatase activity, an enzyme located in the liver microsomes, was determined in the treated membranes. The activity decreased during the first 24 h after inoculation. It reached, after 48 h, from two to six times the value attained after 24 h.

A suspension of heated granules, or of heated *Tétrahymèna géléii*, though producing the same lesions of the membrane, did not increase the phosphatase activity of the microsome fraction after 48 h.

The present results are compatible with the idea that liver microsomes multiply by autoduplication.

L'absorption du facteur «L.E.» par des noyaux cellulaires isolés

Nous savons que le sérum de patients atteints de lupus érythémateux disséminé aigu peut contenir un facteur qui, mis en contact avec des leucocytes, provoque des altérations caractéristiques de ces cellules. Ces altérations consistent en une nucléolyse intracellulaire, en phagocytoses de corps nucléaires par des leucocytes polynucléaires surtout et en rosettes de leucocytes disposés autour des masses nucléaires. Il est possible que le facteur responsable de ce phénomène, appelé «L.E.» ou lupus érythémateux, soit une globuline ayant les caractères d'un anticorps antinoyau. Un sérum antinoyau humain, mis en contact avec des leucocytes humains, provoque en effet des altérations semblables à celles du phénomène L.E.[1].

[1] T. Kuttner et Cohen, J. B. C. *75*, 517 (1937).
[2] R. A. Fennell, J. Elisha Mitchell Soc. *67*, 219 (1951).

[1] P. Miescher, M. Fauconnet et Th. Béraud, J. Exp. Med. Surg. *11*, 173 (1953).

Nous savons qu'un anticorps peut être absorbé par l'antigène correspondant. Dans cet exposé, nous étudions la question de savoir si le facteur L.E. peut être absorbé par des noyaux cellulaires isolés, ces derniers étant considérés comme l'antigène dans le phénomène L.E.

Récemment, nous avons observé dans notre service deux patients présentant un phénomène L.E. indirect positif. Profitant de l'occasion, nous avons fait avec le sérum de ces deux patients le «test d'absorption au moyen de noyaux cellulaires isolés».

Méthode (d'après MIRSKY et POLLISTER[1]), BRAUNSTEINER et coll.[2], POTTER et ELVEHJEM[3] et SCHNEIDER et coll.[4].

Pour absorber 2 cm³ de sérum contenant le facteur L.E., nous employons les noyaux de leucocytes isolés de 30 cm³ de sang citraté provenant d'un patient atteint d'une leucémie à myéloblastes (70000/mm³). Nous ajoutons au sang 1/5e de Subtosan «Specia» (3,5% polyvinyl pyrrolidone) pour faire sédimenter les globules rouges, tout en laissant en suspension les globules blancs. Ce mélange est incubé à 37°C pendant 1 h en tube incliné. Ces leucocytes sont isolés par centrifugation du plasma surnageant. La suite des opérations se fait à une température de 0°C. Le culot leucocytaire est mis en suspension dans 8 cm³ d'une solution à 1 *M*. de saccharose et à 0,2% d'acide citrique. L'acide citrique empêchera l'auto-fermentation des leucocytes lésés lors du procédé suivant. Cette suspension est «pottérisée» pendant 2 min, toujours à une température de 0°C, puis lavée dans 20 cm³ de la solution de saccharose à 0,2% d'acide citrique. Centrifugation pendant 10 min à 1600 tours par minute dans une centrifuge réfrigérée à 0°C. – Dans l'appareil de POTTER, les leucocytes sont traumatisés. Le cytoplasme est détaché des noyaux. La centrifugation sépare ensuite les fragments de cytoplasme des noyaux du fait que le poids spécifique des noyaux est plus grand que celui du cytoplasme. – Le culot cellulaire est de nouveau mis en suspension dans 8 cm³ de la solution de saccharose, «pottérisé» pendant 2 min, puis lavé dans 20 cm³ de la solution de saccharose. Centrifugation comme avant. La même manipulation recommence. Après la 3e «pottérisation», les noyaux sont lavés 4 fois pour enlever les derniers restes de cytoplasme. Contrôle microscopique du résultat obtenu. Dans le tube, contenant le culot des noyaux, on enlève la dernière trace de solution avec un tampon d'ouate. Les noyaux sont ensuite bien suspendus dans 2 cm³ du sérum à examiner. Le reste de ce sérum est gardé pour les contrôles. Le sérum contenant les noyaux isolés est incubé à 4°C pendant 18 h, puis centrifugé pour en éliminer de nouveau les noyaux. Avec le sérum ainsi traité et avec le sérum non absorbé, nous faisons le test L.E. indirect d'après la méthode de WEISBERGER et coll.[5]. Les mêmes leucocytes humains normaux sont ainsi mis en contact en même temps avec le sérum non absorbé et le sérum absorbé.

Le sérum des deux patients a perdu les propriétés spécifiques par l'absorption au moyen de noyaux cellulaires isolés. Le phénomène L.E. a été positif avec le sérum non absorbé et négatif avec le sérum absorbé (Tab. I). Déjà

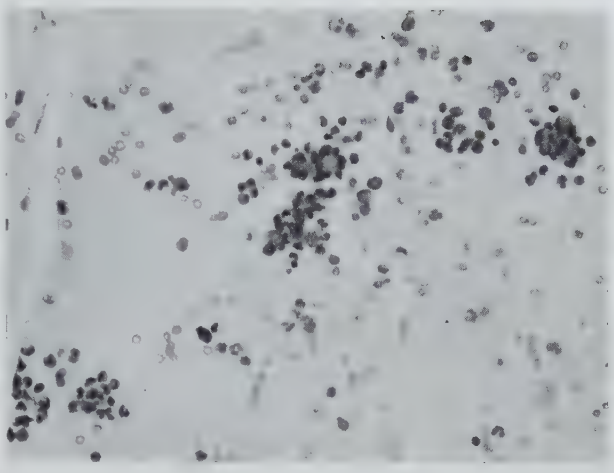


Fig. 1. Test L.E. fait avec le sérum non absorbé de la malade E.B.

Tableau I
Résultat du test d'absorption au moyen de noyaux cellulaires isolés

Sérum du patient	*	Test L.E. indirect		
		Homogénéisation des noyaux polynucléaires (en % de leucocytes)	Cellules L.E.	Formes en rosette
MARCEL G.	*A*	11%	+	++
	B	4%	–	–
EDITH B.				
Premier examen .	*A*	5%	+	++
	B	1%	–	–
EDITH B.				
Second examen .	*A*	4%	++	++
	B	1%	–	–

* *A* sérum non absorbé; *B* sérum absorbé.
\+ formes trouvées isolées sur le frottis.
++ nombreuses formes réparties sur tout le frottis.

au faible grossissement, la différence est évidente: avec le sérum non traité les leucocytes sont disposés en amas et en rosettes autour des masses nucléaires. Avec le sérum

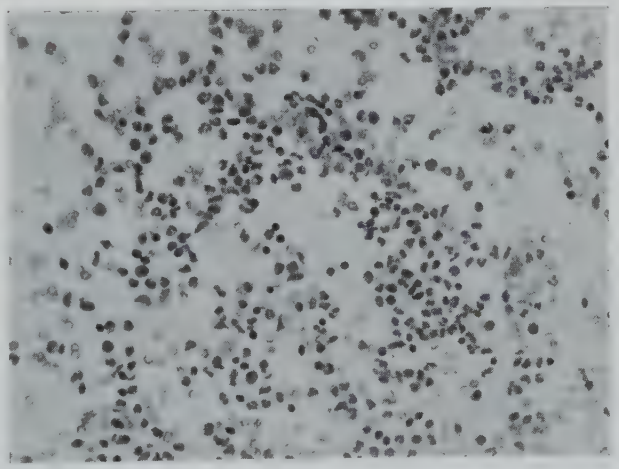


Fig. 2. Test L.E. fait avec le sérum (de la malade E.B.) absorbé par des noyaux cellulaires isolés

[1] A. E. MIRSKY et A. W. POLLISTER, J. General Phys. *30*, 117 (1946).
[2] H. BRAUSTEINER, F. PAKESCH et H. VETTER, Acta Haemat. *8*, 304 (1952).
[3] V. R. POTTER et C. A. ELVEHJEM, J. Biol. Chem. *114*, 495 (1936).
[4] SCHNEIDER et coll., cit. d'après CH. DE DUVE, Expos. ann. Biochimie méd. *14*, 47 (1952).
[5] G. WEISBERGER, C. MEACHAM et R. W. HEINLE, J. Labor. clin. Med. *39*, 480 (1952).

absorbé les leucocytes sont disposés régulièrement sur le frottis (voir Fig. 1 et 2).

Tableau II
Examen électrophorétique du sérum de la malade E. B. avant (* Sérum *A*) et après le test d'absorption (* sérum *B*)

Sérum de la patiente E.B.	*	% protéines					
		Albumine	Globulines				
			alpha 1	alpha 2	béta 1	béta 2	gamma
Expérience I	*A*	38	6	11	7	6	32
	B	42,5	6,5	9,5	8	7	26,5
Expérience II	*A*	38	5,5	10,5	7,5	7	31,5
	B	41	6,5	9,5	8,5	9,5	25

L'étude électrophorétique (électrophorèse sur papier «Elphor»), faite avant et après le test d'absorption, a mis en évidence une diminution nette des gamma-globulines et une diminution peu marquée des alpha-2-globulines (voir Tabl. II).

Nous pouvons *conclure* de ces résultats que le *facteur* responsable *du phénomène L.E.* peut être *absorbé par des noyaux cellulaires isolés*. Ceci parle en faveur de l'hypothèse que le facteur L.E. est une substance ayant un caractère d'anticorps antinoyaux, sans que l'on puisse exclure avec certitude la possibilité que ce facteur soit un enzyme perdant son activité après avoir agi sur des noyaux.

P. Miescher et M. Fauconnet

Clinique Médicale Universitaire, Lausanne, le 30 janvier 1954.

Summary

The serum containing the L.E. factor loses its activity after having been put in contact with isolated cell nuclei. The electrophoretic examination shows a clear diminution of the gamma globulin and a slight diminution of the globulin alpha 2. That the factor responsible for the L.E. phenomenon can be absorbed by isolated cell nuclei is an argument in favor of the hypothesis that this factor is a substance having the character of an antinuclear anti-body, without one being able to exclude with certitude the possibility that this factor is an enzyme.

Migration of "Storage PNA" from Cotyledon into Growing Organs of Bean Seed Embryo[1]

Osawa and Oota[2] have shown that in every growing organs of germinating bean embryo protein is accumulated with simultaneous increase in pentose nucleic acid (PNA) content, and that the reserve organ, the cotyledon, contains a remarkable amount of PNA ("storage PNA") which diminishes rapidly in the course of germination. It seems reasonable to assume that at least part of the "storage PNA" which disappears is recovered in PNA deposited in the anabolic organs. A problem arises here concerning the migrating form of PNA in the embryonic tissues, i.e. whether "storage PNA" is transported as such from the cotyledon into the growing tissues, or as fragments after being decomposed. In other words, whether the increase in PNA content in the latter means simple accumulation of intact PNA molecules transported as such, or resynthesis of PNA from the decomposed fragments in the tissues in question.

Considering the probable relationship between PNA accumulation and protein synthesis, this problem is thought to be worth while pursuing. We have, therefore, conducted preliminary investigations on the behaviour of "storage PNA" in germinating *Vigna sesquipedalis* seeds, and obtained some results which will be reported below.

Firstly, we studied whether the presence of the anabolic organs attached to the cotyledon is an indispensable condition for the disappearance of "storage PNA". Pre-soaked (for 6 h at 35°C) bean seeds were sterilized with 70% alcohol, decoated, and divided into two cotyledon segments under aseptic conditions: one with seedling portion attached and the other without any other organ. These two lots of material were laid spherical side down on separate moist filter papers. After 48 h of aseptic incubation in the dark at 30°C, when the attached seedlings were about 8 cm long, both lots of cotyledons were analyzed for PNA-phosphorus (PNA–P) content, the seedling portions being discarded. Prior to incubation, an aliquot of isolated cotyledon segments was used for estimation of the initial PNA-P content. General methods of fractionation and analysis used were essentially the same as has been described elsewhere[2]. The results are shown in Table I.

Table I.–Change in PNA-P content of bean cotyledon with and without attached seedling

Material	Cotyledon without seedling		Cotyledon with seedling	
Incubation period (hours) .	0	48	0	48
PNA-P (μg/cotyledon segment) . .	31·9	31·3	31·9	16·8

In cotyledons bearing no seedling portion, PNA–P content is found to be retained almost at the initial level during the incubation period, while in cotyledons with seedling portion attached, it is remarkably diminished. That is to say, even with a good water supply, the cotyledon *per se*, i.e. without the seedling portion attached, hardly shows hydrolytic action on PNA. The following explanation may be tentatively given: some factor accelerating the hydrolysis of PNA may be delivered to the cotyledon from the seedling, and/or rapid establishment of equilibrium in the hydrolytic reaction in the cotyledon may be hindered by the removal of reaction products by the growing tissues attached. A further possibility should not be overlooked here that "storage PNA" in the cotyledon migrates as such, without decomposition, into the seedling tissues.

Secondly, the time course of change in contents of total-, acid-soluble-, and PNA–P of both seedling and cotyledons were investigated. Pre-soaked seeds were set out in moist sand placed in porcelain pots, and germinated in the dark at 30°C. The sprouts were harvested at desired stages covering 4 days of cultivation. As the 0-day-old material, pre-soaked seeds were employed. The results obtained are shown in Table II.

[1] We are indebted to Dr. Ch. Koyama, Chemical Institute of Nagoya University, for the use of a Lauritsen apparatus, and also to Dr. A. Sibatani, Laboratory of Cytochemistry, Yamaguti Medical School, for his valuable suggestions during this work. P^{32} used in this experiment was provided by Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, Tennessee, U.S.A.

[2] S. Osawa and Y. Oota, Exper. *9*, 96 (1953).

Table II.–Time-course of changes in contents of total-, acid-soluble-, and PNA-P of seedling (S) and cotyledon (C) of germinating bean seed.

Age of embryo (days)	Phosphorus (μg/embryo)								
	Total			Acid-soluble			PNA		
	S	C	Sum	S	C	Sum	S	C	Sum
0	19·1	355·1	374·2	6·3	143·0	149·3	7·8	63·1	70·9
1	69·8	294·6	364·4	36·5	140·3	176·8	14·7	55·8	70·5
1·5	—	—	—	—	—	—	23·0	46·8	69·8
2	179·0	166·3	345·3	120·0	89·0	209·0	39·6	35·4	75·0
3	233·0	114·2	347·2	185·8	56·0	241·8	54·0	23·9	77·9
4	295·0	63·3	358·3	207·0	25·4	232·4	64·5	18·3	82·8

It is noticeable that practically the whole amount of PNA which disappeared from the cotyledon is recovered as increase in PNA content of the seedling as far as the initial stage of germination is concerned. Later, however, as the age of the tissues progresses, the balance is lost, the increase in seedling PNA growing slightly over the decrease in ,,storage PNA''. Presuming that this is not brought about by chance, the occurrence of such "PNA balance" would favour the idea that, at least in the early germination stage, the seedling owes its PNA increase solely to the cotyledon from which this amount of PNA has been transferred as the intact molecule into the seedling, where it subsequently acquires some capacity of *de novo* synthesis of PNA. It may be noted *en passant* that in the seedling the sum: acid-soluble-P plus PNA-P practically equals the total P level at certain stages of germination. This implies that the amount of acid-insoluble-P compounds[1] other than PNA is small or even negligible in the tissue concerned. It is evident that the cotyledon contains a large quantity of acid-insoluble-P compounds other than PNA (estimated as the difference between the total-P and the sum of acid-soluble-, and PNA-P), which diminishes rapidly with the lapse of time, presumably being transported into the growing tissues as acid-soluble compounds.

The last series of experiment deals with the behaviour of radioactive P^{32} previously absorbed in the embryo. If in the seedling tissues PNA is to be resynthesized from lower units than nucleoside level, the resulting PNA would be tagged with active P. If on the other hand "storage PNA" is transported as such, or at least as a molecule larger than nucleotide, radioactivity would not be detected in the seedling PNA, provided that no P-turnover takes place in PNA in embryonic tissues. In this respect, however, we have only contradictory evidences available: it is known that in *Eschericia coli* culture, the turnover of neither phosphorus[2] nor carbon[3] in the PNA molecules occurs in the synthetic process of PNA; but it has been confirmed that renewal of P in PNA takes place, even under stationary conditions, in the cases of keratin synthesis in the plume of pigeon[4], of egg white formation in the hen's oviduct[5], or of enzyme formation in the mouse pancreas[6].

[1] We have found that DNA-P of the seedling portion estimated by the diphenylamine test is less than 3% of PNA-P throughout the germination stage.

[2] F. W. Putnam, Exper. Cell. Res., Suppl. *2*, 346 (1952). – Y. Fujisawa and A. Sibatani (in press).

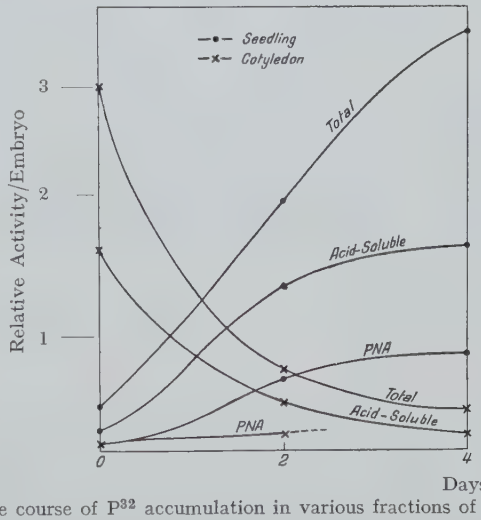
[3] L. A. Manson, Fed. Proc. *12*, 242 (1953).

[4] M. Grenson, Biochim. Biophys. Acta *8*, 481 (1952).

[5] M. Grenson, Biochim. Biophys. Acta *9*, 102 (1952).

[6] M. de Deken-Grenson, Biochim. Biophys. Acta *10*, 480 (1953).

Seven hundred seeds were soaked in 100 ml of 0·0025 M KH_2PO_4 solution containing about 1 mc P^{32} for 5 h at 35°C, then thoroughly rinsed with distilled water, and set out in pots filled with sand. Incubation was carried out for 4 days in the dark at 30°C. No harmful effect of the radioactive P added was observed on the growth of embryo. Appropriate numbers of embryo were harvested at 2 day intervals, and after being decoated and well rinsed, they were separated into cotyledon and seedling portions. They were homogenized in cold 0·9% NaCl solution. An aliquot of homogenate and acid-soluble fraction isolated from another aliquot were used for determination of radioactivity contained in total- and acid-soluble-P compounds, respectively.



Time course of P^{32} accumulation in various fractions of bean seed embryo

As to the determination of the activity of PNA, the specific activity (activity per P) of PNA prepared in a purified state from an aliquot of homogenate by the procedure described in Davidson *et al.*[1] was estimated and then multiplied by total PNA-P of the homogenate estimated separately. Prior to the estimation of activity, each sample was digested, and P was isolated as ammonium phosphomolybdate; activity in terms of discharging velocity was assayed by means of a Lauritsen electroscope.

The Figure shows the time course of accumulation of P^{32} in various fractions of embryonic tissues in the cultivation period. The total radioactivity attained at

[1] J. N. Davidson, S. C. Frazer, and W. C. Hutchison, Biochem. J. *49*, 311 (1951).

the end of the experimental period by the embryo, including both the seedling and a pair of cotyledons, is found markedly to exceed the initial total activity. In all probability, this is due to radioactive P from the seed-coat which is discarded in the analytical procedures. The general trend indicated in this figure is that the absolute amount of P^{32} in each fraction of seedling (or cotyledon) increases (or decreases) parallel with the increase (or decrease) in total-P content of the fraction concerned. Thus, in the seedling PNA a remarkable amount of P^{32} is incorporated. This apparently implies, against the indication given above, that there is a *de novo* synthesis of PNA in the growing organs. The situation, however, can not be so simple, for, as is shown in the figure, the cotyledon itself also accumulates P^{32} slightly but definitely in "storage PNA" molecules, and furthermore the P-turnover would be expected to take place in the seedling PNA to a considerable extent. Hence, the apparent P^{32} incorporation into PNA accumulated in the growing tissues does not necessarily exclude the possibility that "storage PNA" molecules are transported as such into the tissues in question. It may be noted here that some authors, basing mainly on their histochemical observations, have suggested macromolecular transfer of PNA in the processes of spermatogenesis[1], or induction of the amphibian neural tissue[2].

Addendum. The authors were not aware when they prepared the present manuscript, that N. Fries and B. Forsman (Physiol. Plantarum *4*, 410 [1951]) had reported that the ultraviolet-absorbing material, exuded from the roots of pea seedlings, consists mainly of mononucleotides and probably also polynucleotides, thus suggesting migration of intact nucleotide molecules through the membrane of, at least, embryonic tissues of plants. In their paper above-mentioned, Fries and Forsman cited Lundegårdh and Stenlid who had first demonstrated the exudation of nucleotides from the seedling roots.

Y. Oota and S. Osawa

Biological Institute, Faculty of Science, Nagoya University, Nagoya, Japan, November 2, 1953.

Zusammenfassung

Die in den Kotyledonen der Leguminose *Vigna sesquipedalis* als «Reserve-PNA» reichlich gespeicherte Pentosenukleinsäure (PNA) nimmt rasch ab, sobald der Same zu keimen beginnt. In den frühen Stadien der Keimung ist die Abnahme des «Reserve -PNA» scheinbar aufgehoben durch die Zunahme des PNA in den wachsenden Geweben des Keimlings, während später, wenn das Alter der Gewebe sich erhöht, die Gesamtzunahme an PNA in den wachsenden Geweben allmählich die PNA-Abnahme in den Reserveorganen überwiegt. Kotyledonen, die von den Keimlingen abgetrennt und auf feuchtem Filtrierpapier geeignet warm gehalten wurden, zeigen praktisch keine Abnahme im Gehalt an «Reserve-PNA».

Wenn Samen zuerst mit einer Phosphatlösung behandelt werden, die P^{32} enthält und dann zum Keimen gebracht werden, so findet man die Radioaktivität nicht nur im akkumulierten PNA der wachsenden Gewebe, sondern auch in dem im Abbau begriffenen PNA der Kotyledonen. Auf diesen Tatsachen fussend, wird die Möglichkeit einer makromolekularen Wanderung des «Reserve-PNA» von den Kotyledonen in den Keimling kurz diskutiert.

[1] G. Montalenti, G. Vitagliano, and M. De Nicola, Heredity *4*, 75 (1950). – G. Montefoschi, Caryologia *4*, 25 (1951). – B. Battaglia and M. Sarà, Sci. Genet. *4*, 36 (1951). – H. J. Daled, Arch. Anat. Micr. et Morph. expér. *40*, 183 (1951).

[2] J. Brachet, Symposia Soc. Exp. Biol. *6*, 173 (1952).

Die Speicherung von Blutproteinen in den Histiozyten nach vorhergehender Histamineinwirkung

Unlängst haben wir über eine mikrotechnische Methode berichtet, die eine Sichtbarmachung der Speicherung von Proteinen in den Retikuloendothelzellen ermöglicht[1]. Besonders bedeutungsvoll erschien uns die Beobachtung, dass die Zellen des retikuloendothelialen Systems nicht nur artfremde, sondern auch arteigene Serumproteine zu speichern vermögen, und wir folgerten daraus, dass die fortwährende Einverleibung und der Abbau von Blutproteinen eine wichtige physiologische Funktion dieser Zellen darstelle. Unsere neueren Untersuchungen haben unsere früheren Ergebnisse bestätigt und wesentlich weiterentwickelt.

Bei den neuen Versuchen wurde die in unserer ersten Mitteilung angegebene Technik der Eiweissfärbung insofern modifiziert, dass die vom subkutanen Bindegewebe verfertigten Häutchenpräparate in der Goldchloridlösung (2–4%) 30 min fixiert, in reinem Methanol wenigstens 15 min lang gewaschen und dann auf die schon mitgeteilte Weise gefärbt wurden.

Es wurde in dieser Versuchsreihe jungen Ratten arteigenes und artfremdes Serum *subkutan* eingespritzt, um das Eiweiss in unmittelbaren Kontakt mit den Histiozyten zu bringen. 70–80 g schwere Ratten erhielten verdünntes Rattenserum unter die Rückenhaut gespritzt. Es konnte bei den nach 6 h getöteten Tieren in den Histiozyten des subkutanen Bindegewebes eine äusserst starke, grosstropfige Eiweißspeicherung nachgewiesen werden. Jene Tiere, die Pferde- oder Kaninchenserum injiziert bekamen, lieferten ganz ähnliche Bilder; ein auffallender quantitativer Unterschied war nicht zu beobachten. Bei unbehandelten jungen Ratten waren in den Histiozyten keine Eiweissgranula nachweisbar.

Diese Versuche haben ergeben, dass *die Histiozyten arteigenes und artfremdes Serumeiweiss mit der gleichen Bereitwilligkeit speichern* und dass auch im Abbau der verschiedenen Eiweissarten kein wesentlicher Unterschied besteht, da das aufgenommene Eiweiss in allen Fällen nach 48 h fast völlig aus den Zellen verschwindet. Die Speicherbarkeit der Proteine ist also nicht von der Artspezifität des Eiweisses abhängig, sondern es sind hierfür seine allgemeinen physikochemischen Eigenschaften, sein makromolekularer Charakter ausschlaggebend.

Diese experimentellen Ergebnisse legten den Gedanken nahe, durch Anwendung von Histamin als permeabilitätssteigerndem Agens *die Akkumulation der eigenen Blutproteine des Versuchstieres in seinen Histiozyten* hervorzurufen zu versuchen. Unseren Versuchen zufolge hatte sich *insbesondere nach lokaler Anwendung des Histamins* unseren Erwartungen gemäss tatsächlich *Eiweiss in grossen Mengen in den subkutanen Histiozyten angereichert.*

Die enthaarte Rückenhaut junger Ratten wurde in halbstündigen Intervallen viermal nacheinander je 5 min lang mit einer Histaminlösung (2% Histaminchlorhydrat in 40%igem Alkohol) leicht eingerieben und 2 h nach der letzten Behandlung das Tier getötet. Bei diesen Tieren fanden wir in der Subkutis in den die Kapillaren begleitenden (Abb. 1) sowie in den im Bindegewebe verstreuten Histiozyten (Abb. 2) eine reiche grosstropfige Eiweißspeicherung. In den Kontrolltieren dagegen, deren Haut auf ganz analoge Weise nur mit

[1] N. Jancsó und A. Jancsó-Gábor, Exper. *8*, 465 (1952).

dem Lösungsmittel bepinselt worden war, zeigten sich nur ganz vereinzelt kleine Eiweissgranula in den Zellen (Abb. 3), was dem auf die Haut ausgeübten mechanischen Reiz bzw. wahrscheinlich der Wirkung der durch diesen freigesetzten kleinen Histaminmengen zuzuschreiben sein dürfte.

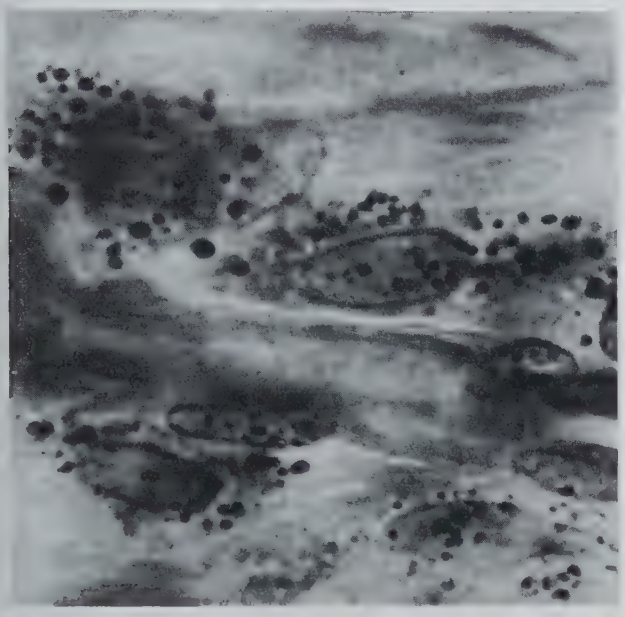


Abb. 1. Eiweißspeicherung in den perikapillaren subkutanen Histiozyten nach perkutaner Histaminbehandlung. Ratte.

Ähnliche Ergebnisse erhielten wir bei subkutaner Injektion des Histamins.

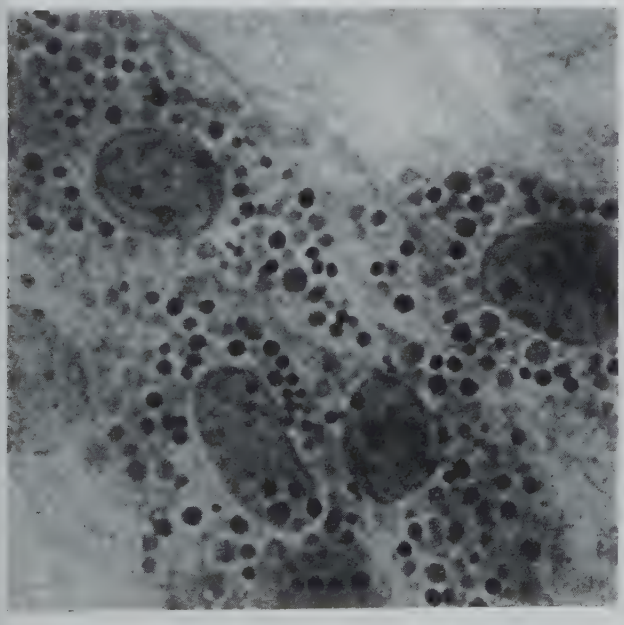


Abb. 2. Eiweißspeicherung in den Histiozyten des subkutanen Bindegewebes nach perkutaner Histaminanwendung. Ratte.

Diese Versuche haben einwandfrei bewiesen, dass die Histiozyten das aus den Gefässen herausströmende Plasmaeiweiss sofort speichern. Wir wissen aber, dass die Kapillaren und kleinen Venen des Bindegewebes auch unter normalen Umständen nicht vollkommen impermeabel für Blutproteine sind, so dass die Schlussfolgerung, dass *in diesen Zellen auch physiologisch fortwährend Blutproteine verarbeitet werden* und dass es zu einer sichtbaren Anhäufung nur deshalb nicht kommt, weil Eiweissaufnahme und Eiweissabbau in den Zellen einander die Waage halten, unvermeidlich erscheint.

Auf Grund dieser Versuche ist es wahrscheinlich, dass auf die Einwirkung histaminfreisetzender Stoffe und anderer permeabilitätssteigernder Pharmaka sowie in Verbindung mit verschiedenen entzündlichen und mit Ödembildung einhergehenden Prozessen in den Histiozyten eine ebensolche gesteigerte Eiweissanreicherung stattfindet wie in unseren Histaminversuchen.

Unseres Erachtens ist *die Speicherung der Plasmaproteine im retikuloendothelialen Apparat eine der wichtigsten physiologischen Aufgaben dieses Zellapparates.* Dieses Phänomen ist u.a. die Ursache für die charakteristische vitale Färbbarkeit dieser Zellen mit sauren Farbstoffen

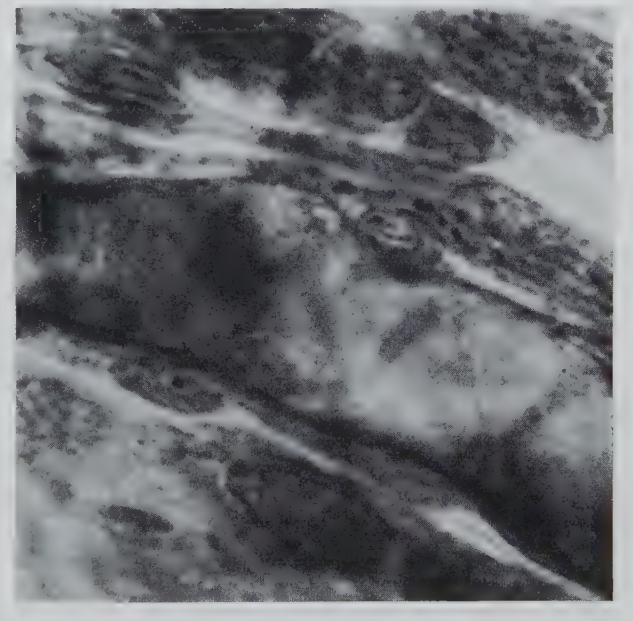


Abb. 3. Kapillare Vene mit perivaskulären Histiozyten aus dem subkutanen Bindegewebe eines Kontrolltieres, dessen Haut lediglich mit dem Lösungsmittel behandelt wurde. (Zu vergleichen mit Abb. 1.)

sowie für die retikuloendotheliale Ablagerung verschiedener Substanzen (zum Beispiel Germanin[1]). Die sich stark an Eiweiss bindenden Stoffe gelangen nämlich gemeinsam mit dem Plasmaeiweiss in die Speicherzellen und werden im Laufe fortwährender Proteinaufnahme und -abbaus im Protoplasma angereichert.

Diese in den Retikuloendothelzellen stattfindenden Vorgänge stellen eine in allen wesentlichen Punkten analoge Erscheinung dar wie die physiologische Resorption der Proteine aus dem Glomerulusfiltrat und die hiermit eng verbundene Farbstoff- und Germaninspeicherung in den Tubuluszellen.

N. Jancsó und Aurelia Jancsó-Gábor

Pharmakologisches Institut der Universität Szeged, den 25. Januar 1954.

Summary

By means of their special histological method, the storage of plasma proteins in the histiocytes was studied

[1] N. Jancsó und A. Jancsó-Gábor, Exper. *8*, 465 (1952); Nature, *170*, 567 (1952); Acta Phys. Acad. Sci. Hung. *3*, 237 (1952).

by the authors in rats and mice. If injected subcutaneously, both homologous and heterologous serum proteins were stored to the same extent at the site of the injection by the histiocytes of the connective tissue.

After smearing the skin with histamine or after subcutaneous injection of histamine, intensive storage of protein occurs locally in the histiocytes. Because of the effect of histamine increasing permeability, these cells accumulate in their body the plasma proteins abundantly escaping from the blood stream.

Even under physiological conditions, plasma proteins are constantly taken up and destroyed by the reticuloendothelial cells and this function has a fundamental biological importance.

Influence du lavage des hématies de l'animal intoxiqué par le Phosgène sur la courbe de saturation de l'hémoglobine en oxygène

Dans un travail antérieur sur les modifications de la fonction respiratoire du sang au cours de l'œdème pulmonaire causé par le Phosgène, Cordier et Français[1] ont montré que les hématies des animaux intoxiqués avaient une affinité pour l'oxygène plus faible que celle des hématies des animaux mourant d'anoxie progressive.

Ce trouble est causé par plusieurs facteurs (D.Cordier et G. Cordier[2]):

1° l'acidose résultant de l'anoxie et de la résorption des produits de désintégration tissulaire;

2° la mobilisation d'hématies spléniques;

3° l'action primitive ou secondaire de substances toxiques libérées au niveau de la lésion et modifiant l'affinité des hématies pour l'oxygène.

Nous avons récemment montré[3] que les acides organiques éthéro-solubles totaux s'accumulant dans les hématies au cours de l'intoxication pouvaient être éliminés hors des globules rouges par plusieurs lavages avec du sérum artificiel. Ces résultats nous ont conduit à rechercher si l'élimination de ces acides (et peut-être d'autres facteurs) par lavages était susceptible de rendre aux hématies leur affinité normale pour l'oxygène.

Méthodes utilisées. Les expériences ont été réalisées chez des chiens anesthésiés au chloralose et intoxiqués par le Phosgène en utilisant les méthodes décrites dans des travaux antérieurs[1]. Les hématies, séparées par centrifugation à partir du sang normal et pathologique, ont été lavées trois fois avec du sérum artificiel spécial[3], porté à 37°C. La concentration globulaire dans les échantillons destinés aux analyses a été gardée aussi voisine que possible de celle du sang normal. Nous avons insisté sur la nécessité de cette opération dans d'autres travaux[4]. Les courbes de saturation de l'hémoglobine en oxygène ont été établies en suivant les techniques utilisées dans nos recherches précédentes[5]. Les acides organiques éthéro-solubles totaux des hématies et du sérum ont été dosés par la méthode d'Orskov[6].

[1] D. Cordier et J. Français, Ann. Physiol. Physic. Chim. Biol. *15*, 339 (1939).

[2] D. Cordier et G. Cordier, C. r. Soc. Biol. *152*, 93 (1948); *152*, 98 (1948)

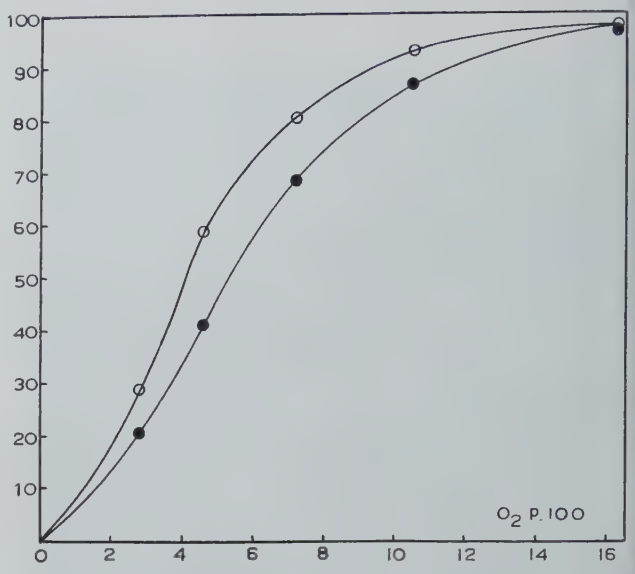
[3] D. Cordier et G. Cordier, C. r. Soc. Biol. *157*, 814 (1953).

[4] D. Cordier et J. Français, Ann. Physiol. Physic. Chim. Biol. *14*, 773, 778 (1938).

[5] D. Cordier et J. Français, Ann. Physiol. Physic. Chim. Biol. *15*, 339 (1939); *14*, 773, 778 (1938).

[6] S. Orskov, Biochem. Z. *201*, 22 (1928); *219*, 409 (1930); Skand. Arch. Physiol. *63*, 255 (1931).

Résultats obtenus. Dans un premier temps, nous avons contrôlé que le lavage des hématies des animaux normaux et intoxiqués extrait à peu près complètement les acides organiques éthéro-solubles totaux (confirmation de notre travail antérieur[1]).



Courbes de saturation de l'hémoglobine en oxygène des hématies de l'animal normal et intoxiqué, après lavage des globules rouges avec du sérum artificiel. *En abscisses:* Tension partielle de l'oxygène dans les tonomètres (en % d'une atmosphère.) – *En ordonnés:* Pourcentage de saturation de l'hémoglobine. *Courbe supérieure* (○): Hématies de l'annimal normal, après lavages. *Courbe inférieure* (●): Hématies de l'animal intoxiqué, après lavages.

Avec ces globules rouges lavés, l'étude comparative des courbes de saturation en oxygène de l'hémoglobine des hématies avant et après l'intoxication montre que cette dernière courbe est nettement déplacée à droite de la première. La figure ci-jointe indique les résultats d'une des six expériences réalisées. Dans tous les cas, nous avons observé que les hématies de l'animal intoxiqué par le Phosgène montrent, après extraction des acides organiques éthéro-solubles totaux, une affinité moindre pour l'oxygène que les hématies normales.

D. Cordier et G. Cordier

Laboratoire de physiologie générale, Faculté des sciences, Université de Lyon, le 15 février 1954.

Summary

The washout of the red blood corpuscles of the dog poisoned by Phosgene, with special saline, clears away all the ether-soluble organic acids accumulated in the corpuscles during the poisoning. The elimination of these acids does not restore the normal affinity of the red blood corpuscles for oxygen and the oxygen dissociation curve of hemoglobin is shifted to the right.

[1] D. Cordier et G. Cordier, C. r. Soc. Biol. *157*, 814 (1953).

Recherches sur la fraction Y des protéines de muscles de Lapin

Le gradient *Y* de Dubuisson[1] est observable sur les protéinogrammes électrophorétiques d'extraits de mus-

[1] M. Dubuisson, Biochim. biophys. Acta *5*, 489 (1950).

cles de Lapin, préparés au moyen de solutions d'extraction de force ionique $\geqslant 0,5$. Il correspond à une fraction protéinique, isolée par l'auteur, soluble à faible force ionique (μ 0,05), mais insoluble dans l'eau distillée. La méthode d'isolement consistait à isoler, de l'extrait total, une fraction précipitant à 35% de saturation en $(NH_4)_2SO_4$, contenant la protéine *Y* et de l'actomyosine, puis en dialysant ce mélange contre une solution de $\mu = 0,05$ (0,016 m Na_2HPO_4 – 0,002 m NaH_2PO_4): la protéine *Y* reste en solution, tandis que l'actomyosine précipite.

Cette méthode présente des difficultés: souvent après dialyse, l'analyse électrophorétique montre, qu'en plus de la protéine *Y*, il subsiste le plus souvent une certaine quantité d'actomyosine.

Nous avons obtenu de meilleurs résultats en précipitant d'abord l'actomyosine avec les autres myosines en diluant l'extrait initial et en précipitant ensuite la fraction *Y* restée dans le liquide surnageant par le $(NH_4)_2SO_4$ à 35% de saturation.

Technique. Les muscles de Lapin sont prélevés immédiatement après la mort de l'animal et introduits dans une enceinte à – 20°C. On évite ainsi l'apparition du *rigor mortis* ainsi que des phénomènes de fatigue ou de contracture[1]. Après avoir hâché les mucles au microtome automatique à congélation en tranches de 40 μ d'épaisseur, on extrait la pulpe pendant 10 min avec 5 volumes d'une solution de Weber-Edsall (KCl 0,6 m, $NaHCO_3$ 0,04 m, Na_2CO_3 0,01 m). L'extraction et les opérations suivantes sont effectuées en chambre froide à environ 1°C. Après centrifugation, on ajoute 10 volumes d'eau distillée au liquide surnageant et on ajuste le pH à 6,3 à l'aide d'une solution d'acide acétique 1 N. On laisse déposer le précipité de myosines[2] pendant environ 2 h et on l'élimine par centrifugation (15 min à 2500 t/min). Le liquide surnageant est filtré sur laine de quartz et est amené ensuite à 35% de saturation en sulfate ammonique par addition de 247,1 g de sel par litre de solution. A ce moment, le pH est d'environ 6. Le précipité est centrifugé, dissous par une solution de μ 0,40 pH 7,4 (Na_2HPO_4 0,048 m – NaH_2PO_4 0,006 m – NaCl 0,25 m) et dialysé contre de l'eau distillée. La fraction *Y* précipite et après lavage est redissoute par une solution de μ 0,10, pH 7,6 (Na_2HPO_4 0,032 m – NaH_2PO_4 0,004 m). On ajoute du sulfate ammonique jusqu'à 35% de saturation, afin de purifier le produit par reprécipitation. On redissout le précipité et on le met en dialyse contre la solution tampon choisie pour l'analyse (μ 0,10, pH 7,6 – μ 0,40, pH 7,4).

Résultats. Les solutions contenant la fraction *Y* présentent un aspect opalescent; elles ne sont ni visqueuses, ni biréfringentes par agitation. Soluble à μ 0,005, pH 7,4, le produit précipite dans l'eau distillée (cfr. Dubuisson[3]).

A l'analyse électrophorétique (méthode de Tiselius-Longsworth[4]), on ne trouve qu'un seul gradient dont la vitesse est, du côté ascendant:

$-2\ 5 \cdot 10^{-5}$ cm$^2 \cdot$V$^{-1} \cdot$s^{-1} à μ 0 40, pH 7,4,
$-4,5 \cdot 10^{-5}$ cm$^2 \cdot$V$^{-1} \cdot$s^{-1} à μ 0,10, pH 7,6,

et du côté descendant:

$-2,4 \cdot 10^{-5}$ cm$^2 \cdot$V$^{-1} \cdot$s^{-1} à μ 0,40, pH 7,4,
$-4,0 \cdot 10^{-5}$ cm$^2 \cdot$V$^{-1} \cdot$s^{-1} à μ 0,10, pH 7,6.

[1] M. Dubuisson, Biochim. biophys. Acta *4*, 25 (1950).
[2] J. P. Greenstein et J. T. Edsall, J. Biol. Chem. *133*, 397 (1940).
[3] M. Dubuisson, Nature *116*, 1116 (1950).
[4] M. Dubuisson, A. Distèche et A. Debot, Biochim. biophys. Acta *6*, 97 (1950). – M. Dubuisson et J. Jacob, Bull. Soc. roy. Sci. Liège, n° *3*, 145 (1945).

Toutefois ce gradient s'étale de façon anormale, ce qui laisse supposer que la fraction n'est pas homogène (Fig. 1). Les clichés d'ultra-centrifugation[1] (Fig. 2) révèlent cette hétérogénéité qui est très grande: les préparations paraissent polydispersées et présentent trois gradients principaux qui ne constituent qu'une fraction de 22% environ. Le plus important de ceux-ci est le moins rapide. Les vitesses de sédimentation de ces trois gradients sont $\approx$ 15, 8, 5 unités Svedberg.

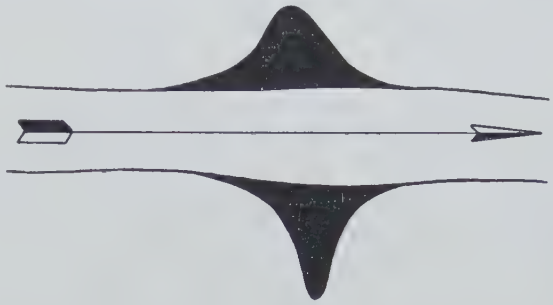


Fig. 1. Fraction *Y* après 20640 s d'électrophorèse à 4,12 V/cm, μ 0,10, pH 7,6.

Le spectre d'absorption U.V. (spectrophotomètre de Beckman) du produit à μ 0,40, pH 7,4, présente un minimum à 252 m μ et un maximum à 277,5 m μ. La présence d'acide nucléique ou de nucléotide est donc exclue.

Fig. 2. Diagramme après 24 min d'ultra-centrifugation d'une solution de protéine *Y* de Lapin dans un tampon phosphatique μ 0,10, pH 7,6. Concentration en protéines: 1,5 g/100 cm^3 de solution. Vitesse: 59780 t/min.

En conclusion, le gradient électrophorétique *Y* est constitué par un mélange très hétérogène de globulines dont les propriétés électrocinétiques sont semblables et qui ne contiennent pas d'acide nucléique.

P. Louis

Laboratoire de biologie générale, Faculté des sciences, Université de Liège, le 22 janvier 1954.

Summary

The proteinic material corresponding to Dubuisson's electrophoretic gradient has been prepared by a new method. This fraction migrates as a single peak in the U-tube, but is heterogeneous in the ultra-centrifugation.

[1] T. Svedberg et R. O. Pedersen, *The Ultracentrifuge* (Oxford University Press, 1940).

Die Wirkung von Aldosteron («Electrocortin») auf den Natrium-, Kalium- und Glykogen-Stoffwechsel des isolierten Muskels

Die Stoffwechselwirkungen des neuentdeckten Nebennierenrinden-Hormons, Aldosteron[1] («Electrocortin»[2]), haben wir am überlebenden Warmblütermuskel, dem

[1] S. A. Simpson, J. F. Tait, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw, O. Schindler und T. Reichstein, Exper. *9*, 333 (1953); *10*, 132 (1954).
[2] W. Schuler, P. Desaulles und R. Meier, Exper. *10*, 142 (1954).

Diaphragma der Ratte, untersucht. Es wurde mit der Wirkung von 17-Oxycorticosteron («compound F») verglichen, weil dieses – neben Corticosteron – das hauptsächlich im Blut vorhandene Corticosteroid ist.

Wir benützen eine Technik, die andernorts[1] ausführlich beschrieben ist: Das Diaphragma von Ratten wird geteilt; die beiden seitlichen Teile, welche je rund 100 mg wiegen, kommen in 4 cm³ Ringer-Lösung, in welcher entweder ein Teil des Na durch Na^{24}, oder ein Teil des K durch K^{42} ersetzt ist. Das Muskelstück wird bei 37°C unter O_2 während 60 min in der Ringer-Lösung geschüttelt. Dabei tauscht das Na und K des Muskels mit dem entsprechenden Isotop der Ringer-Lösung aus. Nach Ablauf dieser Periode werden die Isotopen im veraschten Muskel unter dem Geiger-Rohr bestimmt.

Das eine Diaphragmastück kommt in Ringer-Lösung ohne, das andere in solche mit Zusatz von 200 mg Glukose und 10 E Insulin pro 100 cm³. Das zweite Diaphragmastück bildet intensiv Glykogen, während ohne Glukosezusatz das am Anfang im Muskel vorhandene Glykogen abgebaut wird. Wir bestimmen den Glykogengehalt am Anfang im vertebralen Mittelteil des Zwerchfells.

Die Wirkung der beiden Corticosteroide wurde sowohl ohne wie mit Zusatz von Glukose und Insulin geprüft. Die Steroide wurden in Äthylakohol gelöst zugegeben, wobei die Alkoholkonzentration in der Ringer-Lösung 0,5% betrug, was nicht stört[2].

Es stand uns 1 mg Aldosteron zur Verfügung, wovon zu jedem Muskel 10 γ pro 1 cm³ Ringer-Lösung (1 mg%) hinzugegeben wurde. Von 17-Oxycorticosteron wurde 100 γ je cm³ (10 mg%) benützt, weil uns bekannt war, dass kleinere Mengen noch keine deutlichen Effekte haben.

In der Tabelle sind alle Versuche zusammengestellt. Die in den Muskel eingetretenen Mengen von Na^{24} und K^{42} sind als i.p.m. pro 100 mg Muskel berechnet. Die mittlere Abweichung vom Mittelwert $\varepsilon = \sqrt{\Sigma d^2/[n\ (n-1)]}$ und der P-Wert (nach Student) sind angegeben.

[1] E. Flückiger und F. Verzár, Helv. Physiol. Acta *12*, 50 (1954).

[2] E. Flückiger und F. Verzár, Helv. Physiol. Acta *12*, 57 (1954).

Während der Muskel in glukosefreier Ringer-Lösung 34–61 mg% Glykogen abbaut, wird in Gegenwart von Glukose und Insulin 263 mg% Glykogen gebildet. Die Tabelle zeigt, dass die Wirkung von Glukose auf den Na^{24}- und K^{42}-Austausch verschieden ist, indem sie den Na^{24}-Austausch vermindert, dagegen den K^{42}-Austausch nicht[1].

Aldosteron hat, wenn kein Glykogen gebildet wird, den Na^{24}-Austausch um 13,6% erhöht, und den K^{42}-Austausch um ebensoviel vermindert. War jedoch Glukose vorhanden und wurde Glykogen gebildet, dann wurde sowohl der Na^{24}- als auch der K^{42}-Austausch vermindert. Die den Na^{24}-Austausch hemmende Glukosewirkung wurde durch Aldosteron noch verstärkt; die Aldosteronwirkung auf den K^{42}-Austausch wurde dagegen durch Glukose eher vermindert.

Vergleicht man diese Wirkungen mit jenen von 17-Oxycorticosteron[2], so zeigt sich, dass dieses in zehnfach höherer Konzentration zwar nicht ganz identisch, aber ähnlich und schwächer wirkt. Ohne Glukose ist eine Förderung des Na^{24}-Austausches nur angedeutet ($P<0{,}3$), während die Förderung durch Aldosteron gesichert ist ($P<0{,}01$). Ferner ist bei Gegenwart von Glukose der Na^{24}-Austausch nicht stärker vermindert als mit Glukose allein. Bezüglich des K^{42}-Austausches wirken in diesen Konzentrationen beide Corticosteroide ähnlich. Dieses Verhalten gegenüber dem Na^{24}-Austausch dürfte mit der Wirkung von 17-Oxycorticosteron auf den Glykogenstoffwechsel zusammenhängen, denn dieses zeigt noch einen Teil der Hemmungswirkung auf die Glykogenbildung, die besonders bei Desoxycorticosteron («Cortexon») ausgeprägt ist[2].

Zusammenfassend kann als bewiesen festgestellt werden, dass Aldosteron bereits in sehr geringer Konzentration (10 γ/cm³) die Permeabilität des Muskels für Natrium- und Kaliumionen vermindert, bei Gegenwart von Glukose bzw. Glykogenbildung. In Ringer-Lösung ohne Glukose wird Glykogen abgebaut, und der Effekt auf den Natriumaustausch ist umgekehrt.

[1] E. Flückiger und F. Verzár, Helv. Physiol. Acta *12*, 50 (1954).

[2] E. Flückiger und F. Verzár, Helv. Physiol. Acta *12*, 57 (1954).

Corticosteroid-Zusatz	Konzentration	Bestimmung	Zahl der Versuche	Ohne Glukose 1	Mit Glukose* 2	Mit Aldosteron: ohne Glukose 3	Mit Aldosteron: mit Glukose* 4
Aldosteron	10 γ/cm³ (= 1 mg%)	Na^{24} i.p.m.	8	817 ± 17,1	710 ± 21,8 −13,0% $P_{1,2} < 0{,}01$	928 ± 31,3 +13,6% $P_{1,3} < 0{,}01$	639 ± 28,9 −21,7% $P_{1,4} < 0{,}01$
		K^{42} i.p.m.	8	534 ± 15,7	523 ± 13,4 −2%	469 ± 15,2 −13,6% $P_{1,3} < 0{,}01$	495 ± 10,6 −7,2% $P_{1,4} < 0{,}1$
		Glykogen mg%	4	−40	+263**	−61	+266
				Ohne Glukose	Mit Glukose	Mit 17-Oxycorticosteron: ohne Glukose	Mit 17-Oxycorticosteron: mit Glukose
17-Oxycorticosteron	100 γ/cm³ (= 10 mg%)	Na^{24} i.p.m.	35	787 ± 21,0	693 ± 19,6 −12% $P_{1,2} < 0{,}01$	824 ± 26,5 +4,6% $P_{1,3} < 0{,}3$	685 ± 22,6 −13% $P_{1,4} < 0{,}01$
		K^{42} i.p.m.	41	557 ± 10,9	554 ± 12,3 −0,3%	475 ± 11,0 −17,4% $P_{1,3} < 0{,}01$	516 ± 11,5 −7,3% $P_{1,4} < 0{,}02$
		Glykogen mg%	18	−34	+263**	−45	+184

* Mit Glukose bedeutet: 200 mg und 10 E Insulin pro 100 cm³. ** Aus der früheren Arbeit Helv. Physiol. Acta *12*, 57 (1954) entnommener Mittelwert.

Mit 17-Oxycorticosteron in zehnmal höherer Konzentration sind alle diese Wirkungen ähnlich, aber schwächer.

Wir danken der Ciba-Aktiengesellschaft, Basel, für die Überlassung von Aldosteron und der Merck Inc., Rahway, für Compound F.

E. Flückiger und F. Verzár

Physiologisches Institut der Universität Basel, den 14. April 1954.

Summary

(1) The influence of Aldosterone ("Electrocortin") was compared with that of 17-oxycorticosterone (compound F). The exchange of Na^{24} and K^{42} with the electrolytes of muscle was studied, with or without the addition of glucose and insulin. The diaphragm of the rat in Ringer's solution was used.

(2) Aldosterone (1 mg%) decreases the permeability of the muscle for Na^{24} and K^{42} if glucose and insulin are present, i.e. when glycogen is produced. Without glucose it increases Na^{24} exchange.

(3) 17-oxycorticosterone in ten times greater concentration (10 mg%) has similar, but somewhat less influence on the permeability.

Zentralerregende Wirkung eines neuen Piperidinderivates[1]

Vor mehreren Jahren befasste sich Panizzon in unseren Laboratorien u.a. mit der Herstellung von Phenyl-pyridyl- und Phenyl-piperidyl-essigsäure-Derivaten[2], aus deren Reihe sich nach Befunden von R. Meier, Gross und Tripod der Phenyl-piperidyl-(2)-essigsäuremethylester (I), kürzlich in die Therapie als Ritalin eingeführt, als besonders zentralerregend erwies[3]. Im Zusammenhang mit Arbeiten über zyklische Alkylenimin-Derivate[4] versuchten wir, weitere Piperidin-Abkömmlinge herzustellen. Dabei stiessen wir auf einen sehr stark wirksamen Verbindungstypus, nämlich den der 2-(Diarylmethyl)-piperidine[1], über den chemisch bzw. pharmakologisch andernorts ausführlicher berichtet werden soll. Wir beschränken uns hier auf die Beschreibung der Darstellung und pharmakologischer Eigenschaften des 2-Diphenylmethyl-piperidins der Formel II

I (Ritalin) II (Nr. 14469)

Nr. 14469 unterscheidet sich von Ritalin dadurch, dass die Carbomethoxygruppe durch einen Phenylkern ersetzt ist, wodurch überraschenderweise die zentralerregende Wirksamkeit wesentlich erhöht wurde.

Das neue Piperidin-Derivat erhielten wir in einfacher Weise durch Kondensation von Diphenyl-acetonitril mit 2-Brompyridin in Gegenwart von Natriumamid und Toluol. Das dabei in guter Ausbeute entstehende 2-(Diphenyl-cyanmethyl)-pyridin vom Smp. 123–125° liess sich leicht mit Schwefelsäure, unter gleichzeitiger Decarboxylierung zum 2-Diphenylmethyl-pyridin, verseifen. Durch Hydrierung in Gegenwart eines Nickelkatalysators wurde selektiv der Pyridinkern reduziert, und wir erhielten in guter Ausbeute das 2-Diphenylmethyl-piperidin. Die Verbindung ist eine starke Base, die bei 150–151° (0,01 mm) siedet und Kristalle vom Smp. 65–67° (aus Petroläther) bildet. Das Hydrochlorid wird in Form farbloser, wasserlöslicher Nadeln vom Smp. 286–287° erhalten; das Pikrat schmilzt bei 199–200°.

Das 2-Diphenylmethyl-piperidin-hydrochlorid zeigte bei der pharmakologischen Prüfung gewisse, sehr spezifische Wirkungen. Im Vordergrund steht ein ausgesprochener zentralerregender Effekt, welcher bei verschiedenen, nicht narkotisierten Tierarten (Maus, Ratte, Kaninchen und Hund) zuerst in allgemeiner Unruhe, später in hochgradiger koordinierter Motilitätssteigerung, Reflexsteigerung, Zwangsbewegungen und relativ geringer Atemerregung besteht. Je nach der Tier- bzw. Verabreichungsart tritt die typische psychomotorische Wirkung ab $^1/_{50}$–$^1/_{20}$ der akuten

[1] 8. Mitteilung über Alkylenimin-Derivate. 7. Mitteilung siehe B. M. Iselin und K. Hoffmann, J. Am. Chem. Soc. *76* (im Druck).
[2] L. Panizzon, Helv. chim. Acta *27*, 1748 (1944); *29*, 324 (1946).
[3] R. Meier, F. Gross und J. Tripod, Klin. Wschr. *32*, 445 (1954).
[4] 1. Mitteilung über Alkylenimin-Derivate, E. Tagmann, E. Sury und K. Hoffmann, Helv. chim. Acta *35*, 1235 (1952).

[1] Unabhängig von uns haben vor kurzem B. B. Brown und H. W. Werner [Fed. Proc. *12*, 1003 (1953); J. Pharmacol. *110*, 180 (1954)] mitgeteilt, dass ein Derivat dieser Reihe, nämlich das 2-(Diphenyloxy-methyl)-piperidin, eine zentralerregende Wirkung vom Amphetamintypus besitze.

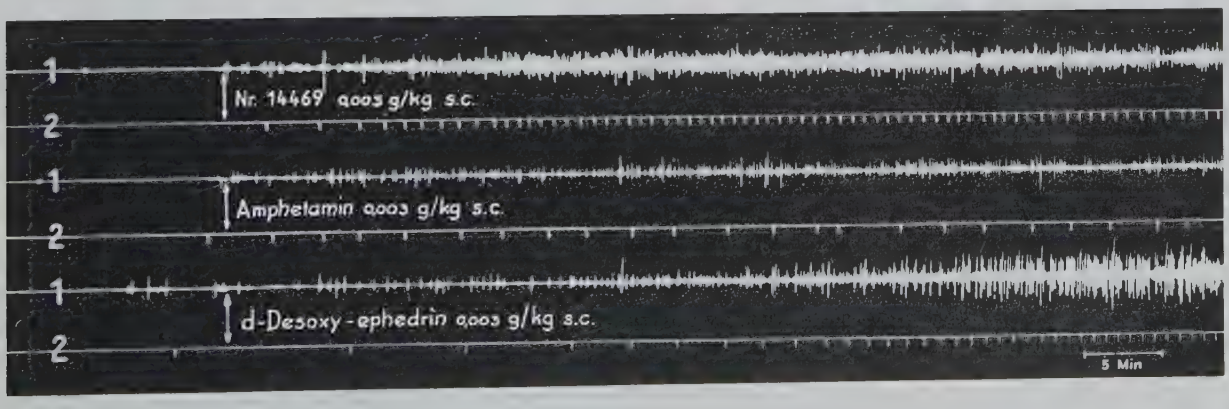


Abb. 1. Motilitätssteigerung an der Maus nach Nr. 14469, Amphetamin und d-Desoxy-ephedrin 0,003 g/kg s.c.
1 = Direkte Registrierung der Bewegungen. *2* = Markierung von je 100 Bewegungen mit dem Totalisator.

LD_{100} ein. Sie hält mehrere Stunden an und klingt unter Ermüdungserscheinungen ab. Dieser Effekt lässt sich objektiv mit Hilfe der modifizierten[1] Zitterkäfigmethode[2] an der normalen Maus leicht feststellen. Bei dieser Methode werden die «einzelnen» Bewegungen registriert und mittels eines Totalisators addiert. Die Zahl der mit unserer Apparatur registrierbaren «Spontanbewegungen» für unbehandelte Mäuse beträgt rund 500 pro Stunde (Abb. 1).

Die mit dieser Methode festgestellte, ausgesprochene psychomotorische Wirkung zeigt in qualitativer Hinsicht keine deutlichen Unterschiede zwischen den drei verglichenen Pharmaka. In quantitativer Hinsicht beträgt jedoch die ED_{2000} (aus den Dosis-Wirkungskurven intrapolierte Dosis, welche 2000 Einzelbewegungen in der ersten Stunde erzeugt; n = 12–24 Tiere/Dosis) von Nr. 14 469 und von d-Desoxy-ephedrin etwa 0,001 g/kg s.c., diejenige von Amphetamin etwa 0,0035 mg/kg s.c. In diesem Test ist somit das neue Piperidinderivat gleich wirksam wie d-Desoxy-ephedrin, aber ungefähr 3mal stärker als Amphetamin.

Die zentralerregende Wirkung zeigt auch einen ausgesprochenen Antagonismus gegenüber Narkotika bzw. anderen zentralhemmenden Pharmaka, und zwar besteht ein wechselseitiger Antagonismus. Die Toxizität der neuen Substanz wird durch Phenobarbital 0,05 g/kg p.o., Barbital 0,20 g/kg p.o., Urethan 1,0 g/kg p.o. und Äthylalkohol 3,0 g/kg p.o. deutlich herabgesetzt. Von praktisch grosser Bedeutung ist die narkoseaufhebende Wirkung. Mit Hilfe der Bestimmung der Narkosetiefe an der Ratte nach Barbital 0,20 g/kg s.c. ist die Weckwirkung der neuen Verbindung wesentlich stärker als diejenige von Amphetamin und d-Desoxy-ephedrin und erreicht etwa diejenige des Cardiazols.

Als Ausdruck einer sympathikomimetischen Wirkung zentralen Ursprungs wird der Blutdruck des narkotisierten Kaninchens bzw. der narkotisierten Katze durch niedere Dosen von 0,0001–0,001 g/kg i.v. leicht erhöht, durch höhere Dosen von 0,003–0,006 g/kg i.v. dagegen leicht gesenkt. Periphere sympathikomimetische Wirkungen am Ganztier und an isolierten Organen sind kaum vorhanden.

Die neue Verbindung gehört somit in pharmakologischer Hinsicht zu den psychomotorisch erregenden Pharmaka mit besonders ausgeprägter narkoseantagonistischer Wirkung; sie besitzt sehr geringe periphere sympathikomimetische Wirkungen.

J. Tripod, E. Sury und K. Hoffmann

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Basel, den 26. Februar 1954.

Summary

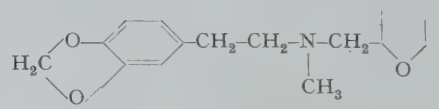
A new piperidine derivative, the 2-diphenylmethylpiperidine, produces already in doses of 0·001 g/kg s.c. a strong increase of the spontaneous motility of various animals. On mice it has about the same potency as d-desoxy-ephedrine and is about 3 times more potent than amphetamin. It also acts markedly antagonistic on various narcotics but has practically no peripheral sympathomimetic effects.

[1] J. Tripod, Helv. physiol. Acta *10*, 403 (1952).
[2] F. Hauschild, Arch. exp. Path. Pharm. *191*, 465 (1939).

Activité antifibrillante chez l'animal d'un nouveau dérivé de la phényl-éthylamine[1]

La variété des méthodes expérimentales qui peuvent provoquer des troubles du rythme et/ou une fibrillation cardiaque, ainsi que la diversité chimique et pharmacodynamique des agents antifibrillants, montre qu'il s'agit là de phénomène très particuliers dont on ne contrôle expérimentalement que certains facteurs[2]. Selon la méthode employée, qui peut mettre en cause une ou plusieurs étiologies, les agents antifibrillants appartiennent en gros à certains sympathicolytiques, anesthésiques locaux, alcaloïdes, et même à des groupes pharmacodynamiques assez hétéroclites. Si la majorité de ces antifibrillants possède bien quelque effet antagoniste contre certains types expérimentaux de troubles du rythme cardiaque, il semble aussi que, pour déterminer l'effet antifibrillant chez l'homme, ces méthodes n'ont qu'une valeur relativement limitée, même si elles donnent toujours la possibilité de trouver de nouvelles substances qui posséderaient une spécificité prononcée jointe à un indice thérapeutique relativement élevé.

Parmi les alcaloïdes antifibrillants, l'α-fagarine peut être considérée comme une substance contenant le noyau de la phényl-éthylamine, si bien que nous avons synthétisé toute une série de dérivés de cette dernière, en particulier ceux dont le N peut appartenir en même temps à un reste iso-indolinique, ou être substitué par un reste furyl-(2) ou tétrahydrofuryl-(2)-méthylique. Ce dernier type ne semble pas encore avoir été étudié, malgré le grand nombre de dérivés de la phényl-éthylamine qui furent décrits jusqu'à présent. De tels dérivés de la phényl-éthylamine sont obtenus en condensant l'amine avec des aldéhydes du furane ou des halogénides du furfuryl et hydrogénation ultérieure[3]. Dans ce groupe, le 2-[N-(3′-4′-méthylènedioxy-phényléthyl)-méthylamino-méthyl]-tétrahydrofurane, N° 11 081,



est une base de p.e. 130–131° (0,015 mm), dont le chlorhydrate a un p.f. 138–139° et un oxalate un p.f. 139–140°.

Cette nouvelle substance possède une forte activité contre la fibrillation produite par l'aconitine et celle due à l'adrénaline + $CHCl_3$ ou à l'adrénaline + cyclopropane, méthodes malgré tout susceptibles de tenir compte de divers mécanismes antifibrillants. Sur le cœur isolé de chat perfusé selon notre méthode décrite récemment[4], le nouveau produit montre déjà aux concentrations de 10^{-6} à 2×10^{-6} un fort antagonisme contre la tachycardie et la fibrillation produite par l'aconitine (Fig. 1), l'effet antagoniste de l'α-fagarine étant qualitativement le même à partir de 5×10^{-7} et celui de la procaïne à partir de 10^{-5}.

[1] 9e communication sur les dérivés des alcoylène-imines; 8e communication, cf. Exper. *10*, 261 (1954).
[2] J. Tripod, Arch. int. Pharmacodyn. *85*, 121 (1951). – G. S. Dawes, Pharmacol. Rev. *4*, 43 (1952). – E. E. Troch, Arch. int. Pharmacodyn. *94*, 175 (1953).
[3] La synthèse de ces dérivés et en particulier de la substance décrite ici, a fait l'objet de divers brevets (par exemple l'U.S. brevet 2658905 avec priorité suisse du 22 mars 1951). Ces corps seront décrits ailleurs en détail, autant au point de vue chimique que pharmacodynamique.
[4] J. Tripod, Arch. int. Pharmacodyn. *85*, 121 (1951).

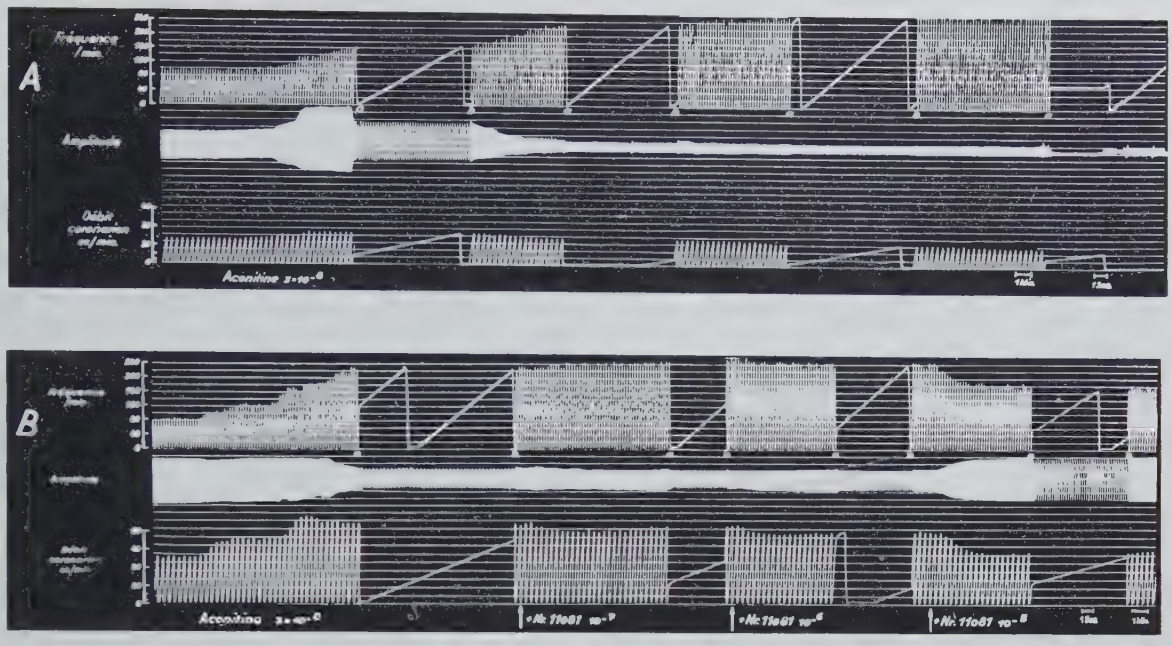


Fig. 1. Fibrillation du cœur isolé de chat sous l'influence de l'aconitine 3×10^{-8} (*A*). Antagonisme produit par des concentrations croissantes du No. 11 081 (*B*). Entre *a* et *b*, la vitesse du kymographe est 50 fois plus grande qu'entre *b* et *a*.

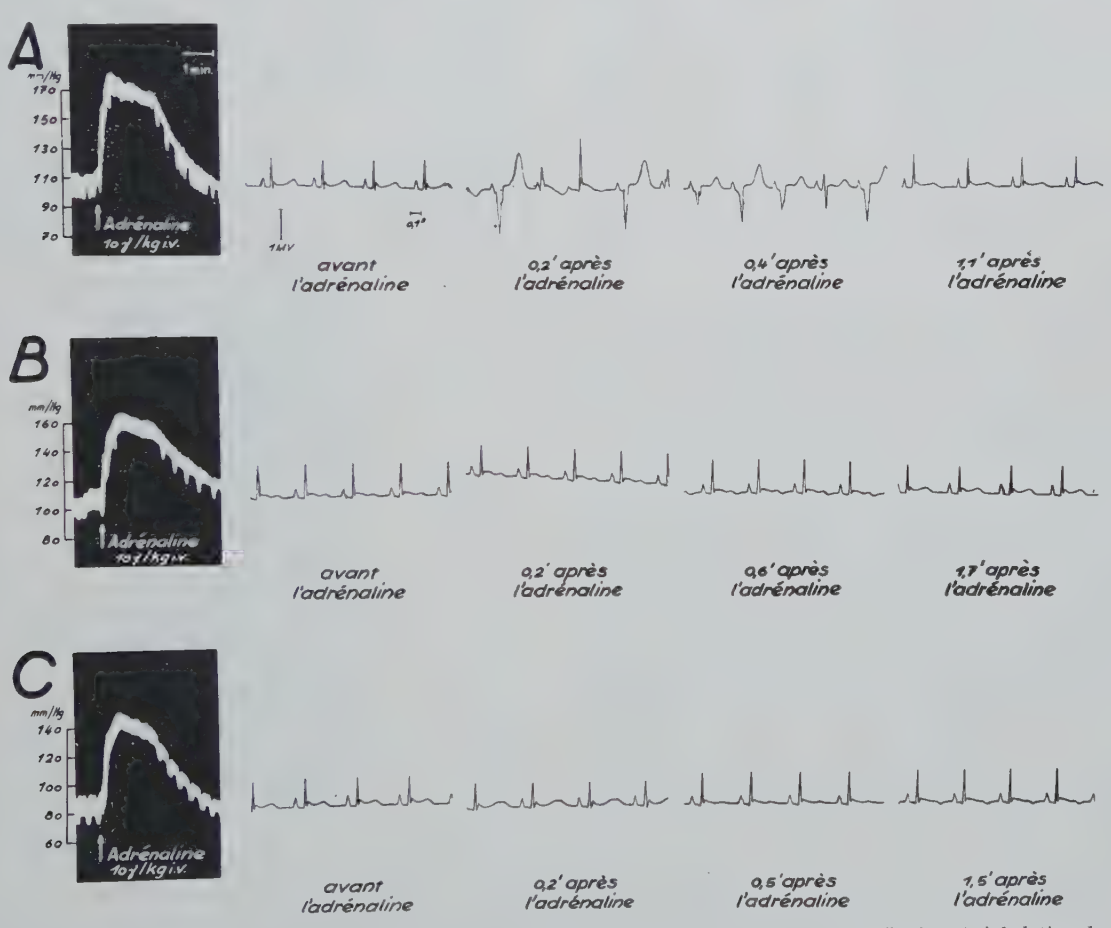


Fig. 2. Action antifibrillante du No. 11 081 contre les troubles du rythme produit par l'adrénaline 10 γ/kg i.v. + inhalation de $CHCl_3$. Chat narcotisé au Dial; à gauche, pression artérielle; à droite, modifications de l'ECG (dérivation CR). *A* = contrôle; *B* = 5 min après 7,5 mg/kg i.v. du No. 11 081; *C* = 35 min après 7,5 mg/kg i.v. du No. 11 081.

En outre, l'injection d'adrénaline 10–20 γ/kg i.v. chez le chat inhalant du $CHCl_3$ ou 18–20 % de cyclopropane mélangé à 95 % O_2 + 5 % CO_2, méthode qui cette fois fait aussi intervenir des facteurs étiologiques extra-

cardiaques précédemment exclus, entraîne régulièrement une hypertension passagère accompagnée de fibrillation et d'arythmie cardiaque. Ces troubles peuvent être diminués, raccourcis et même supprimés par un traitement préalable avec le No. 11 081 5–10 mg/kg i.v. (Fig. 2).

Dans ces deux tests chez l'animal entier, l'α-fagarine produit un effet analogue à des doses semblables, tandis que la procaine semble moins active, surtout contre l'arythmie due à l'adrénaline + cyclopropane. Par contre, la nouvelle substance est bien active per os à la dose de 50 mg/kg, ce qui contraste avec l'irrégularité de l'effet per os de la procaine.

J. Tripod, M. Spillmann et K. Hoffmann

Laboratoires scientifiques de CIBA, Société Anonyme, Bâle, le 26 février 1954.

Summary

A new synthetic phenyl-ethyl-amine derivative, the 2-[N-(3′,4′-methylen-dioxyphenylethyl)-methylaminomethyl]-tetrahydrofuran, No. 11 081, exhibits a strong protective effect against cardiac fibrillation and arrhythmias produced by various experimental methods: against fibrillation due to aconitine 3×10^{-8} on the isolated cat's heart, it is active in a concentration of 10^{-6}–2×10^{-6}. Against cardiac arrhythmias produced in the cat by adrenaline + $CHCl_3$ or cyclopropane, it shows a protective effect by 5–10 mg/kg i.v. and even perorally by 50 mg/kg. In these tests, the antifibrillatory activity of the new compound seems to be roughly the same as that of α-fagarine, and higher than that of procaine.

Neurosecretion and Anterior Pituitary in the Dog[1]

It has been shown in a variety of vertebrates that the stainable granules which are produced by neurosecretory cells in the hypothalamus pass along the axons through the pituitary stalk into the posterior lobe. There they are stored in nerve endings surrounding blood vessels into which the granules are released. This neurosecretory material contains the posterior lobe hormones. The posterior pituitary can be depleted of this material in experimental animals by subjecting them to conditions causing the release of posterior lobe hormones. The dehydrated organism, for instance, in an effort to conserve body water, reduces urinary output by using up large amounts of antidiuretic hormone. The posterior pituitaries of such animals contain only small quantities of neurosecretory material. As soon as adequate amounts of water are again available and the requirements for antidiuretic hormone return to normal, the neurosecretory substance quickly re-accumulates in the perivascular nerve endings of the posterior pituitary[2].

It appears that the vessels of the posterior pituitary are not the only outlets for this material. In amphibians, granules which stain the same way as those stored in the posterior pituitary, can be traced along nerve fibers from the neurosecretory cells of the hypothalamus to the median eminence in which the fibers end around capillaries. Here the neurosecretory material is deposited in a perivascular pattern similar to that seen in the posterior lobe[1]. The capillaries of the median eminence are connected with vessels which supply another capillary bed in the anterior lobe of the pituitary[2]. In analogy to the hepatic portal system, these vascular connections between median eminence and anterior pituitary have been called portal vessels. Corresponding relationships obtain in reptiles[3]. In birds, nerve fibers descending from the neurosecretory cells of the hypothalamus toward the posterior pituitary form loops which reach capillaries connected with the portal vessels. These nerve fibers carry neurosecretory material; the loops could facilitate the transfer of this material from the nerve fibers to the capillaries[4].

With respect to mammals there is some disagreement as to whether or not neurosecretory material is found in nerves ending at the capillaries in the peripheral zone of the infundibular stalk. Although a number of observers have reported accumulations of neurosecretory material around the vessels in the median eminence[5], others deny their occurrence[6].

Since contradictory statements refer even to the same species, namely the dog, the question has been re-examined in a large material of dogs, both purebred (greyhounds and basset hounds) and mongrels of different ages.

The animals were anesthesized with nembutal (pentobarbital sodium). A cannula was tied into the ascending aorta; the descending aorta and axillary arteries were clamped off. The head was perfused with saline followed by Zenker's fluid to which, in the course of the perfusion, 5% formalin was added. The hypothalamus with the attached hypophysis was removed, fixed in Zenker-formol for another 12 to 24 h, washed, and carried through the alcohol series, methylbenzoate and benzene into paraffin for embedding. Serial sections of 5 and 7 μ thickness were stained by the chrome hemato-

[1] Dedicated to Professor Friedrich Baltzer, University of Berne, Switzerland, on the occasion of his 70th birthday, March 12, 1954.

[1] These studies were aided by a contract between the Office of Naval Research, Department of the Navy, and the University of Colorado, Nr. 112–335.

[2] R. Ortmann, Klin. Wschr. *28*, 449 (1950); Z. Zellforsch. *36*, 92 (1951). – W. Hild, Virchow's Arch. *319*, 526 (1951); Acta neuroveg. *3*, 81 (1951); Z. Zellforsch. *37*, 301 (1952). – W. Hild und G. Zetler, Exper. *7*, 189 (1951); Arch. exp. Path. Pharmakol. *213*, 139 (1951); Klin. Wschr. *30*, 433 (1952); Dtsch. Z. Nervenheilk. *167*, 205 (1952); Z. ges. exp. Med. *120*, 236 (1953); Pflügers Arch. *257*, 169 (1953). – F. Stutinsky, C. r. Soc. Biol. (Paris) *146*, 1691 (1952). – Th. F. Leveque and E. Scharrer, Endocrinology *52*, 436 (1953).

[1] A. B. Dawson, Anat. Rec. *112*, 443 (1952).

[2] J. D. Green, Anat. Rec. *99*, 21 (1947).

[3] Unpublished observations.

[4] J. Benoit et I. Assenmacher, Pubbl. Staz. Zool. *24* (Suppl.), 27 (1954).

[5] W. Bargmann, W. Hild, R. Ortmann, and Th. H. Schiebler, Acta neuroveg. *1*, 233 (1950). – F. Stutinsky, C. r. Soc. Biol. Paris *145*, 367 (1951). – W. Hild, Z. Zellforsch. *37*, 301 (1952). – W. Bargmann, Geburtsh. Frauenheilk. *13*, 193 (1953). – S. L. Palay, Am. J. Anat. *93*, 107 (1953). – G. A. Drager, J. Comp. Neur. *99*, 75 (1953). – A. R. Rothballer, Anat. Rec. *115*, 21 (1953). – W. Bargmann, Verhandl. Anat. Ges., Anat. Anz., Ergänzungsh. zu Bd. *100*, 30 (1954). – B. Hanström describes a granular material stainable with azan, but not with Gomori's chrome hematoxylin in the median eminence of the coney, *Procavia capensis* (Arkiv för Zoologi, *4*, 187 [1952]) and the Tasmanian ant-eater, *Tachyglossus setosus* (Z. Zellforsch. *39*, 241 [1953]). He discusses (Arkiv för Zoologi *6*, 97 [1953]) the possibility that this material is carried via the portal vessels into the anterior pituitary and thus plays a role in its humoral control. This material could be produced by cells of tuber nuclei whose fibers end in the median eminence. It will be of great interest to determine whether the same material stains differently in different species or whether the median eminence actually receives different kinds of neurosecretory material from different groups of nerve cells in the hypothalamus.

[6] J. Christ, Dtsch. Z. Nervenheilk. *165*, 340 (1951). – H. Nowakowski, Dtsch. Z. Nervenheilk. *165*, 261 (1951). – H. Spatz, Acta neuroveg. *3*, 5 (1951). – H. Knoche, Acta Anat. *18*, 208 (1953).

xylin-phloxine method of GOMORI as recommended by BARGMANN[1].

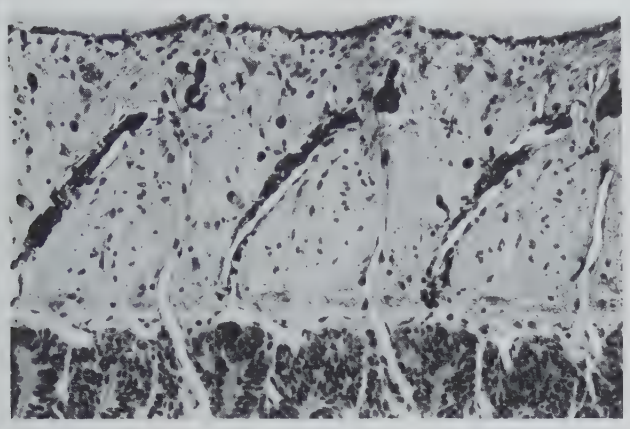


Fig. 1.—Three consecutive sections through the pituitary stalk and anterior pituitary of a bassethound (3½ months old). Masses of neurosecretory material surround the portal vessels. Vascular perfusion with Zenker-formol, paraffin, 5μ, GOMORI's chrome-hematoxylin-phloxin stain, photomicrograph, magnification × 325.

The stainability of the neurosecretory material in the hypothalamic-hypophyseal system with chrome hematoxylin, while not specific, is highly selective and permits the identification of even small amounts of this substance. As Figures 1 and 2 show, neurosecretory material can be observed in the dog along the vessels which extend into the peripheral zone of the pituitary stalk, and which are continuous with the blood vessels of the anterior pituitary. While this localization of neurosecretory material has been observed in a number of adult dogs, it is particularly conspicuous in young animals.

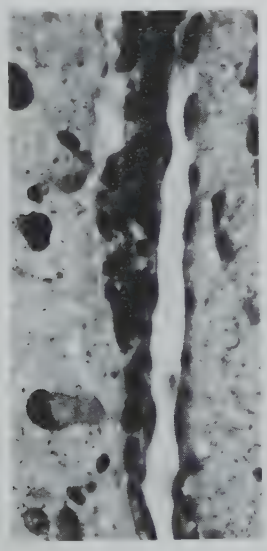


Fig. 2.—Neurosecretory material along wall of a portal vessel in the pituitary stalk. Material and technique as in Figure 1. Magnification × 950.

If neurosecretory granules are actually released into the blood vessels to be carried to the anterior pituitary, one might expect increased accumulation of this material if it loses its outlet as a result of hypophysectomy. This is indeed the case in hypophysectomized rats in which the portal vessels are surrounded by much larger quantities of neurosecretory material than is seen normally[1]. The same phenomenon has been observed in a clinical case of pituitary infantilism in which the pituitary had been destroyed in childhood. The patient died at the age of 60 years. Sections of the median eminence showed capillary loops in the midst of numerous granules and droplets which stained blue with chrome hematoxylin[2].

Present methods indicate that the neurosecretory cells of the mammalian hypothalamus produce only one substance which is stainable with chrome hematoxylin and contains the posterior lobe hormones. If this substance is indeed carried to the anterior lobe via the portal vessels it could play a role in the control of the release of anterior lobe hormones as has been proposed by several investigators (BARGMANN, PALAY, DRAGER, and others)[3]. In this case one would have to assume either that the neurosecretory material contains active principles in addition to the posterior lobe hormones, or that the latter stimulate the cells of the anterior pituitary. The second possibility would explain certain tie-ups between anterior and posterior lobe hormones. Stress, for instance, causes the release of both ACTH and antidiuretic hormone[4]. If posterior lobe hormones circulating in the anterior pituitary can elicit the discharge of ACTH, prolonged administration of posterior lobe extracts should result in a hypertrophy of the adrenal cortex. Such an effect has been observed[5]. Corresponding relationships appear to exist between the posterior lobe hormones and the gonadotropic hormones of the anterior pituitary. Thus optical stimuli which presumably are transmitted from the eye to the hypothalamus, may result in the discharge from the posterior pituitary of hormones affecting water excretion[6] as well as the release from the anterior pituitary of gonadotropic

[1] W. BARGMANN, Z. Zellforsch. *34*, 610 (1949). – Mikroskopie (Wien) *5*, 289 (1950).

[1] F. STUTINSKY, C. r. Soc. Biol. (Paris) *145*, 367 (1951). – T. F. LEVEQUE, Unpublished observations.

[2] H. ORTHNER, Acta neurovegetativa *3*, 50 (1951). – H. ORTHNER and T. H. SCHIEBLER, Arch. Psychiat. Nervenkrankh. *186*, 59 (1951).

[3] W. BARGMANN, W. HILD, R. ORTMANN, and TH. H. SCHIEBLER, Acta neuroveg. *1*, 233 (1950). – F. STUTINSKY, C. r. Soc. Biol. Paris *145*, 367 (1951). – W. HILD, Z. ZELLFORSCH. *37*, 301 (1952). – W. BARGMANN, Geburtsh. Frauenheilk. *13*, 193 (1953). – S. L. PALAY, Am. J. Anat. *93*, 107 (1953). – G. A. DRAGER, J. Comp. Neur. *99*, 75 (1953). – A. R. ROTHBALLER, Anat. Rec. *115*, 21 (1953). – W. BARGMANN, Verhandl. Anat. Ges., Anat. Anz., Ergänzungsh. zu Bd. *100*, 30 (1954). – B. HANSTRÖM describes a granular material stainable with azan, but not with GOMORI's chrome hematoxylin in the median eminence of the coney, *Procavia capensis* (Arkiv för Zoologi *4*, 187 [1952]) and the TASMANIAN ant-eater, *Tachyglossus setosus* (Z. Zellforsch. *39*, 241 [1953]). He discusses (Arkiv for Zoologi *6*, 97 [1953]) the possibility that this material is carried via the portal vessels into the anterior pituitary and thus plays a role in its humoral control. This material could be produced by cells of tuber nuclei whose fibers end in the median eminence. It will be of great interest to determine whether the same material stains differently in different species or whether the median eminence actually receives different kinds of neurosecretory material from different groups of nerve cells in the hypothalamus.

[4] M. A. HAYES and F. A. COLLER, Surg., Gynecol. Obst. *95*, 142 (1952). – I. A. MIRSKY, R. MILLER, and M. STEIN, Psychosomatic Med. *15*, 574 (1953). – I. A. MIRSKY, M. STEIN, and G. PAULISCH, Endocrinology *54*, 491 (1954)). – ST. KARÁDY, J. S. L. BROWNE, and H. SELYE, Quart. J. Exp. Physiol. *28*, 23 (1938).

[5] R. C. MOEHLIG and E. A. OSIUS, Ann. Int. Med. *4*, 578 (1931).

[6] E. M. BOYD and F. M. YOUNG, Endocrinology *27*, 137 (1940). – E. M. BOYD, B. K. LEE, and M. E. T. STEVENS, Endocrinology *32*, 27 (1943). – D. HOFMANN-CREDNER, Helv. med. Acta [A] *20*, 1 (1953). – F. HOLLWICH, Münch. Med. Wschr. *94*, 1057 (1952).

hormones[1]. Accordingly, lesions in the hypothalamus and the median eminence of the pituitary stalk which cause diabetes insipidus also disturb hypophyseal gonadotropic functions[2].

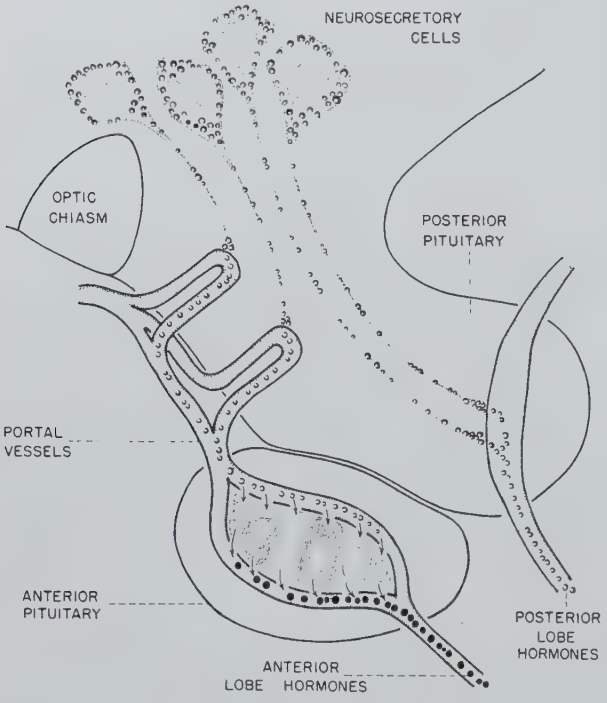


Fig. 3.—Diagram to illustrate a possible passage of neurosecretory material via portal vessels to the anterior pituitary and its hypothetical role in the release of anterior lobe hormones such as ACTH and gonadotropins.

Such relationships could mean that in the release of both posterior and anterior lobe hormones, the same system of neurosecretory cells plays a role in a manner illustrated schematically in Figure 3. However, in mammals there is as yet no direct experimental evidence to support this hypothesis. In fact, Zuckerman[3] concludes from experiments in ferrets that there is no such relationship. On the other hand, the observations of Benoit and Assenmacher[4] in birds strongly support it. Clearly, this problem deserves further study.

E. Scharrer

Department of Anatomy, University of Colorado, School of Medicine, Denver, Colorado, USA, April 4, 1954.

Zusammenfassung

Die Ablagerung von neurosekretorischem Material in der unmittelbaren Umgebung von Blutgefässen im Hypophysenstiel, die mit Gefässen des Vorderlappens in Verbindung stehen, wird beim Hund beschrieben. Aus diesem Befund wird auf die Möglichkeit geeshlossen, dass die von den Zellen der Nuclei supraopticus und paraventricularis produzierte neurosekretorische Substanz nicht nur in die Gefässe des Hypophysenhinterlappens abgeschieden wird und im Körperkreislauf die sogenannten Hinterlappenhormone abgibt, sondern auch in den Pfortaderkreislauf des Vorderlappens gelangt und dort die Absonderung von Hormonen, wie zum Beispiel ACTH, bewirkt.

[1] D. S. Farner, L. R. Mewaldt, and S. D. Irving, Biol. Bull. *105*, 434 (1953). – M. Galgano and V. Mazzi, Riv. Biol. *43*, 21 (1951). – J. Benoit, I. Assenmacher, and F. X. Walter, C. r. Soc. Biol. Paris *144*, 573 (1950). – J. Benoit, F. X. Walter, and I. Assenmacher, J. de Physiol. *42*, 537 (1950). – C. r. Soc. Biol. Paris *144*, 1206 (1950). – J. Benoit and I. Assenmacher, J. de Physiol. *43*, 643 (1951).

[2] F. L. Dey, C. Fisher, C. M. Berry, and S. W. Ranson, Am. J. Physiol. *129*, 39 (1940).

[3] S. Zuckerman, Pubbl. Staz. Zool. *24* (Suppl.), 21 (1954).

[4] J. Benoit and I. Assenmacher, Arch. Anat. Micr. Morph. Exp. *42*, 334 (1953).

Activité gonadotrope d'un extrait d'urines de femmes en ménopause

Contrairement à la gonadotrophine choriale (HCG, Human Chorionic Gonadotrophin), les actions biologiques des gonadostimulines humaines d'origine hypophysaire sont encore très peu connues. En résumant la littérature sur l'activité gonadotrope des urines provenant de femmes en ménopause physiologique ou artificielle («HMG», Human Menopausal Gonadotrophins[1]), Evans et Simpson[2] arrivent à la conclusion que le facteur FSH (Follicle Stimulating Hormone) prédomine nettement. Les extraits urinaires stimulent en effet chez le rat hypophysectomisé la croissance des follicules ovariques et la prolifération de l'épithélium séminal. D'après les auteurs cités, seules des doses très élevées entraîneraient par contre le rétablissement des cellules interstitielles atrophiées à la suite de l'hypophysectomie ou chez la rate intacte et impubère la formation de corps jaunes. Les effets caractérisant l'action du facteur ICSH (Interstitial Cell Stimulating Hormone) seraient donc discrets par rapport à ceux du facteur FSH.

Greep et Jones[3] affirment qu'une activité d'ICSH est facilement démontrée dans les urines de femmes ménopausées tout en maintenant qu'il y en a peu et que le facteur FSH prédomine. Ils ont obtenu chez des rats impubères hypophysectomisés aussi bien une augmentation des poids des testicules, des vésicules séminales et des prostates ventrales, qu'une augmentation des poids ovariques et utérins et la formation de corps jaunes.

Ces résultats sont opposés aux observations de Schuler[4] qui a injecté à des rats hypophysectomisés des extraits urinaires provenant de trois femmes dont l'âge dépassait 60 ans. Il n'a pas constaté d'augmentation des poids ovariques et utérins qui aurait témoigné de la présence du facteur FSH, par contre un degré de lutéinisation comparable à une activité de 10–20 U.I. de HCG par litre d'urine.

Nous avons tâché de contribuer, par de nouveaux faits expérimentaux, à la solution du problème en examinant l'activité gonadotrope d'un extrait[5] intitulé «HMG» et préparé à partir d'une grande quantité

[1] Nous employons dans ce travail les termes, critères et méthodes recommandés par F. Benz (Bâle), R. Borth (Genève), J. B. Brown (Edimbourg), W. R. Butt (Birmingham), A. C. Crooke (Birmingham), E. Diczfalusy (Stockholm), J. A. Loraine (Edimbourg), B. Lunenfeld (Genève), W. Schuler (Bâle) et H. de Watteville (Genève) lors d'une réunion à la Maternité de Genève, du 26 au 28 août 1953.

[2] H. M. Evans et M. E. Simpson, *Physiology of the Gonadotrophins* dans G. Pincus et K. V. Thimann, *The Hormones*, vol. *2* (Academic Press, New York 1950).

[3] R. O. Greep et I. C. Jones, Recent Progr. Horm. Res. *5*, 242 (1950).

[4] W. Schuler, Helv. physiol. pharmacol. Acta [C] *5*, 47 (1947).

[5] Nous remercions vivement MM. le professeur J. H. Gaddum et le Dr J. A. Loraine (Edimbourg) qui ont bien voulu mettre à notre disposition un échantillon de cet extrait préparé par la Maison Organon (Newhouse, Ecosse).

d'urine provenant de très nombreuses femmes en ménopause, selon la méthode de DEKANSKI[1] et LORAINE[2] (adsorption au kaolin – élution au NaOH – précipitation par l'acétone). 1 mg d'extrait servant à nos expériences correspond à 10 cm³ du mélange d'urines. Nous avons trouvé l'extrait pratiquement exempt d'œstrogènes, 8 mg ne provoquant aucune augmentation du poids de l'utérus chez la rate impubère castrée. MCARTHUR[3] a obtenu avec une méthode analogue des extraits dépourvus d'androgènes.

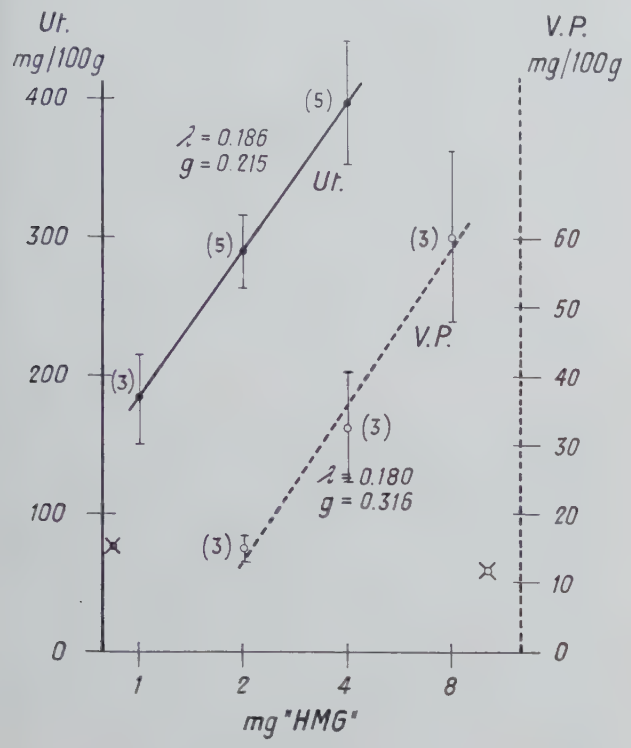


Fig. 1. Activité gonadotrope d'un extrait d'urines de femmes en ménopause (HMG, human menopausal gonadotrophins[4]). Courbes des réponses en fonction du logarithme de la dose (dose-response curves), pour les gonadotrophines totales (courbe *Ut.*, poids de l'utérus chez des souris impubères) et pour le facteur ICSH (courbe *V.P.*, poids de la prostate ventrale chez des rats impubères hypophysectomisés). Le λ de GADDUM[5] et le g de FIELLER[6] sont des coefficients statistiques mesurant la précision de la droite de régression. Nous donnons pour chaque valeur moyenne son erreur-type ainsi que le nombre d'animaux survivants. Les points croisés représentent des témoins non traités.

L'activité des *gonadotrophines totales*[4] a été testée sur des souris femelles impubères, celle du *facteur ICSH* sur des rats mâles impubères hypophysectomisés 9 jours auparavant, en employant comme critères soit le poids de l'utérus, soit le poids de la prostate ventrale. Nous donnons sur le graphique (Fig. 1) le nombre des animaux survivants ainsi que les deux courbes des réponses en fonction du logarithme de la dose (dose-response curves). Ces courbes sont des droites de régression caractérisées par les coefficients suivants:

Critère	Coefficient de détermination[1] B	λ de GADDUM[2]	g de FIELLER[3]
Utérus	0,608*	0,186	0,215
Prostate ventrale	0,685*	0,180	0,316

* $P < 0{,}01$.

Pour les doses employées, les réactions des organes récepteurs augmentent donc proportionnellement au logarithme de la dose. Il faut conclure que l'extrait stimule la sécrétion d'œstrogènes par l'ovaire et la sécrétion d'androgènes par le testicule et qu'il peut servir[4] comme standard de référence pour le dosage biologique des gonadotrophines totales et du facteur ICSH. Nos résultats confirment ceux obtenus auparavant par LORAINE[5].

Ayant démontré ainsi l'activité gonadotrope de l'extrait en ce qui concerne les effets indirects dus à la sécrétion des hormones stéroïdes, nous avons cherché à mettre en évidence *l'effet direct sur la morphologie du testicule*. Les testicules des rats hypophysectomisés ont été prélevés et fixés dans la solution alcoolique de BOUIN, et les coupes de 6 μ d'épaisseur ont été colorées à l'hématoxyline-éosine. Chez les témoins hypophysectomisés non traités (Fig. 2*a*) le testicule est en pleine régression. Les tubes séminifères ont un diamètre beaucoup plus petit que chez l'animal adulte intact (Fig. 2*b*). La spermatogenèse s'arrête au stade de la spermatogonie; si l'on trouve encore quelques spermatocytes I, la plupart d'entre eux montrent des noyaux pycnotiques ou pas de noyaux du tout. Les cellules de LEYDIG sont allongées, elles montrent un protoplasme pâle et souvent des noyaux pycnotiques. Chez les animaux traités avec 8 mg d'extrait (Fig. 2*c*) les tubes séminifères sont par contre presque aussi larges que chez l'animal intact âgé de 7 mois (Fig. 2*b*), on voit de nombreux spermatozoïdes et une forte activité à tous les stades de la spermatogenèse. Les cellules de LEYDIG sont rondes et bien formées, leur protoplasme est foncé, elles montrent une forte activité sécrétoire et diffèrent à peine des cellules de l'animal intact. Après la dose de 2 mg d'extrait, la spermatogenèse s'arrête au stade des spermatocytes II et les cellules interstitielles semblent inactives à l'aspect

[1] J. DEKANSKI, Brit. J. Exper. Path. *30*, 272 (1949).
[2] J. A. LORAINE, J. Endocrinol. *6*, 319 (1950).
[3] J. W. MCARTHUR, Endocrinology *50*, 304 (1952).
[4] Nous employons dans ce travail les termes, critères et méthodes recommandés par F. BENZ (Bâle), R. BORTH (Genève), J. B. BROWN (Edimbourg), W. R. BUTT (Birmingham), A. C. CROOKE (Birmingham), E. DICZFALUSY (Stockholm), J. A. LORAINE (Edimbourg), B. LUNENFELD (Genève), W. SCHULER (Bâle) et H. DE WATTEVILLE (Genève) lors d'une réunion à la Maternité de Genève, du 26 au 28 août 1953.
[5] J. H. GADDUM, Spec. Rep. Ser. M.R.C., Londres, N° 183 (1933). – Cf. C. I. BLISS, *Statistical Methods in Vitamin Research* dans P. GYÖRGY, *Vitamin Methods*, vol. 2 (Academic Press, New York 1951).
[6] E. C. FIELLER, J. Roy. Statist. Soc., Suppl. *7*, 1 (1940). – Cf. D. J. FINNEY, *Statistical Method in Biological Assay* (Griffin, London 1952).

[1] A. LINDER, *Statistische Methoden* (Birkhäuser, Basel 1951).
[2] J. H. GADDUM, Spec. Rep. Ser. M.R.C., Londres, N° 183 (1933). – Cf. C. I. BLISS, *Statistical Methods in Vitamin Research* dans P. GYÖRGY, *Vitamin Methods*, vol. 2 (Academic Press, New York 1951).
[3] E. C. FIELLER, J. Roy. Statist. Soc., Suppl. *7*, 1 (1940). – Cf. D. J. FINNEY, *Statistical Method in Biological Assay* (Griffin, London 1952).
[4] Nous employons dans ce travail les termes, critères et méthodes recommandés par F. BENZ (Bâle), R. BORTH (Genève), J. B. BROWN (Edimbourg), W. R. BUTT (Birmingham), A. C. CROOKE (Birmingham), E. DICZFALUSY (Stockholm), J. A. LORAINE (Edimbourg), B. LUNENFELD (Genève), W. SCHULER (Bâle) et H. DE WATTEVILLE (Genève) lors d'une réunion à la Maternité de Genève, du 26 au 28 août 1953.
[5] Communication personnelle.

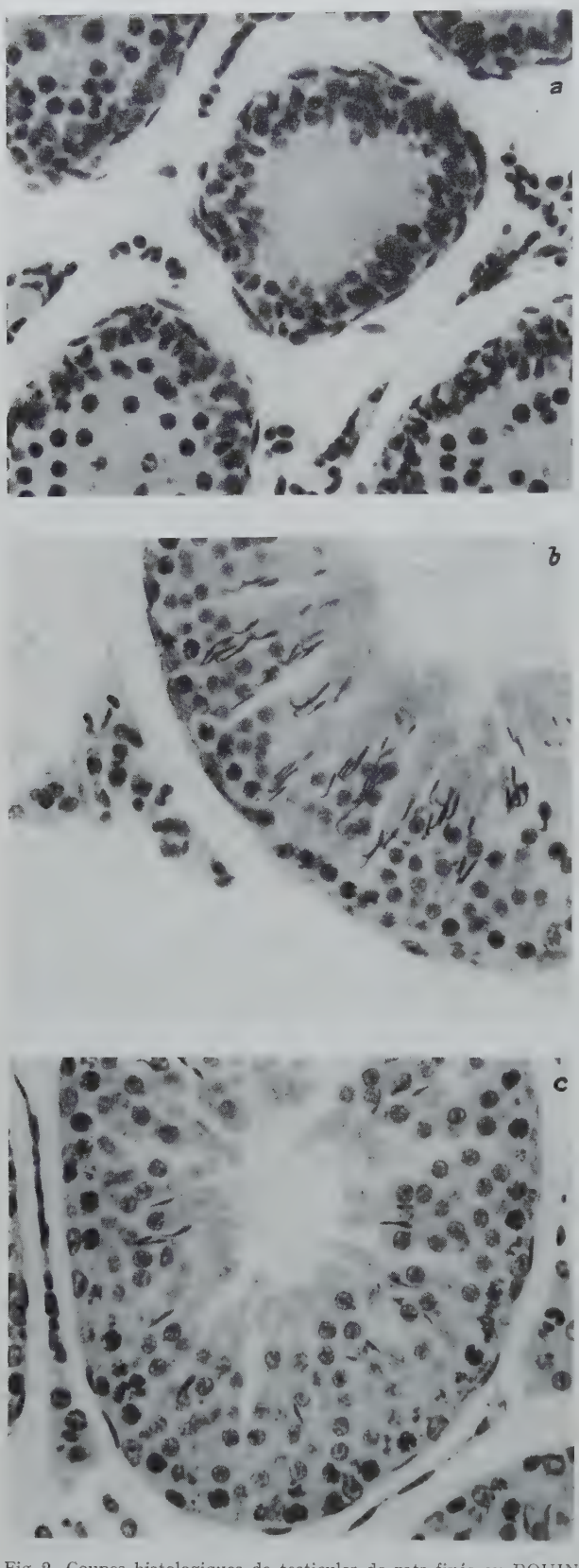


Fig. 2. Coupes histologiques de testicules de rats fixés au BOUIN alcoolique, colorés à l'hématoxyline-éosine. Agrandissement 470 ×. *a* Animal impubère non traité, 12 jours après hypophysectomie. *b* Animal intact de 7 mois. *c* Animal impubère, 12 jours après hypophysectomie et traité avec 8 mg d'extrait d'urines de femmes en ménopause.

histologique. La dose de 4 mg provoque une image intermédiaire entre les deux autres.

Conclusion. Un extrait d'urines de femmes en ménopause a été examiné au point de vue de son activité gonadotrope. Chez la souris impubère il stimule la sécrétion d'œstrogènes (croissance de l'utérus). Chez le rat impubère hypophysectomisé il provoque le rétablissement des cellules interstitielles avec sécrétion d'androgènes (croissance de la prostate ventrale) et une spermatogenèse allant jusqu'à la formation de spermatozoïdes. Il s'agit donc d'un extrait dont des quantités identiques et relativement modestes montrent une activité gonadotrope complète comprenant aussi bien le facteur FSH que le facteur ICSH, ce qui laisse entrevoir d'intéressantes perspectives thérapeutiques.

Ce travail a bénéficié de l'appui du Fonds national suisse de la Recherche scientifique. Nous tenons à remercier la Ciba S.A. à Bâle pour les rats hypophysectomisés et M. Morand et Mlle Iwaszkiewicz pour leur précieuse assistance technique.

R. Borth, B. Lunenfeld et
H. de Watteville

Laboratoire d'Hormonologie de la Maternité, Genève, le 12 novembre 1953.

Summary

An extract from pooled postmenopausal urine has been investigated for its gonadotrophic activity. Dose-response curves have been constructed for its total gonadotrophic activity (stimulation of estrogen secretion as reflected by the uterine weight increase in immature mice) and for its ICSH activity (stimulation of androgen secretion as reflected by the ventral prostate weight increase in hypophysectomised immature rats). In hypophysectomised immature rats, the extract produced repair of the interstitial cells of the testes and complete spermatogenesis. It contains, therefore, FSH as well as ICSH activity in comparable amounts, a fact which opens up interesting therapeutic possibilities.

PRO EXPERIMENTIS

Untersuchung von Adenosintriphosphorsäure (ATP), Adenosindiphosphorsäure (ADP), Adenosinmonophosphorsäure (AMP) und Inosinsäure (IMP) in ruhenden und kontrahierten Froschrektusmuskeln

Zur Klärung der Frage, ob die ATP-Spaltung die unmittelbare chemische Energiequelle für die Muskelkontraktion darstellt, sind schon vergleichende Untersuchungen zwischen ruhenden und ermüdeten Muskeln vorgenommen worden (zum Beispiel Lundsgaard, Wajzer und Nekhorocheff u.a.[1]). Von den Ergebnissen an ermüdeten Muskeln können aber nicht ohne weiteres Schlüsse auf die Vorgänge bei einer Einzelkontraktion gezogen werden. Die verwendeten Analyseverfahren (Säurehydrolyse nach Lohmann[2] oder kombinierte enzymatisch-spektrophotometrische Methode nach Kalckar[3]) haben ausserdem den Nachteil, dass

[1] E. Lundsgaard, Proc. Roy. Soc. B. *137*, 74 (1950).
[2] K. Lohmann, Biochem. Z. *202*, 477 (1928).
[3] H. M. Kalckar, J. Biol. Chem. *167*, 449 und 461 (1947).

eine genaue quantitative Bestimmung von ADP nicht möglich ist. Erst die neueren chromatographischen Verfahren gestatten auch eine saubere Analyse der ADP. So untersuchten MOMMAERTS und RUPP[1] mit Hilfe von Chromatographie an einem Anionenaustauscherharz den Nukleotidgehalt der Hinterbeinmuskeln von Fröschen in der Ruhe und nach Kontraktion in flüssiger Luft. Bei diesem Verfahren erhielten sie im Falle der Kontraktion eine starke Verminderung von ATP (im Mittel um $^1/_5$ des ATP-Gesamtgehaltes) und Zunahme von ADP und AMP. Bei Versuchen an Katzenherzen fanden KHAIRALLAH und MOMMAERTS[2] mit derselben Methode ähnlich wie in den oben angeführten Untersuchungen nach längerer Reizung eine Abnahme von ATP und wie WAJZER und NEKHOROCHEFF[3] das Auftreten von IMP. Nach einer Einzelkontraktion in flüssiger Luft nahm ATP ebenfalls ab. Als Abbauprodukt geben die Verfasser neben ADP allerdings noch eine in ihrer Konstitution nicht bekannte Substanz an.

Dasselbe Problem – die Änderung des Nukleotidgehaltes von Muskeln in Ruhe und am Ende einer Einzelkontraktion – wurde für den Skelettmuskel am Beispiel des M. rectus abdom. von *R. esculenta* untersucht. Die Auslösung der Kontraktion erfolgte nicht durch Eintauchen des Muskels in flüssige Luft, sondern es wurde eine Methode ausgearbeitet, die es gestattet, die Untersuchungen bei jeder gewünschten Temperatur durchzuführen und die Kontraktion auf verschiedene Weisen (Pharmaka, elektrische Reizung) auszulösen. Nichtkontrahierte und kontrahierte Muskeln wurden in der gleichen Art behandelt: Sofortige Zerkleinerung mit schnell rotierenden Messern in 60%igem Alkohol und Trocknung der abzentrifugierten Alkoholextrakte in gefrorenem Zustand (Lyophilisation). Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst, zur Beseitigung von Fetten mit Äther ausgeschüttelt und mit Hilfe von Hochspannungspapierionophorese (MICHL[4]) in m/10 Pyridinazetat, pH 6,5, vorgetrennt. Aus dem getrockneten Elektrophoresepapier wurden die einzelnen Nukleotidfraktionen wieder mit Wasser eluiert und zur besseren Identifizierung in 2 ½% Natriumzitrat-Isoamylalkohol, pH 8,3, chromatographiert. Zur Kennzeichnung und quantitativen Bestimmung dienten Nukleotidpräparate des Handels als Vergleichssubstanzen, UV-Absorptionsspektren, P[5]- und Ribosenachweis[6].

Für Rektusmuskeln, die bei Zimmertemperatur in Froschtyrodelösung suspendiert waren, ergibt sich am Ende einer zum Beispiel durch Acetylcholin ausgelösten maximalen Kontraktion eine ATP-Abnahme um etwa 0,25 μ Mol/g Feuchtgewicht gegenüber ruhenden Muskeln mit einem ATP-Gehalt von im Mittel 1,91 μ Mol/g.

Im Gegensatz zu den Befunden von MOMMAERTS und RUPP beträgt die ATP-Verminderung während der Kontraktion höchstens $^1/_8$ des Ruhe-ATP-Gehalts. Gleichzeitig mit der ATP-Abnahme nimmt ADP in entsprechendem Masse zu. Eine AMP-Zunahme wurde nur selten beobachtet. Nur bei Winterfröschen (*R. esculenta*) fand im kontrahierten Muskel immer auch eine Zunahme von AMP statt, und IMP, die im ruhenden Muskel nicht oder nur in Spuren vorhanden war, trat in Mengen von 0,4 μ Mol/g Feuchgewicht auf.

Die Methode ist geeignet, kleinste Änderungen im Nukleotidgehalt von Muskeln zu erfassen. Die gemessenen Mengen geben aber nur den Gesamtgehalt der einzelnen Nukleotide an. Um nur die Änderungen des Anteils der ATP zu erfassen, der zu den kontraktilen Proteinen in Beziehung steht, ist noch eine weitere Differenzierung notwendig.

G. LANGE

Pharmakologisches Institut der Universität Mainz, den 27. Januar 1954.

Summary

A method for the estimation of muscle nucleotides is described. The separation of nucleotides has been accomplished by paper ionophoresis at high voltages, as well as by paper chromatography. Even little changes in the nucleotide content such as the changes in a single muscular contraction can be well observed by this method.

A decrease of 0·25 μ M ATP/g/contraction (i.e. about $^1/_8$ of the normal ATP content) has been observed in a contracted muscle, when compared with the ATP content of the resting muscle.

[1] W. F. H. M. MOMMAERTS und J. C. RUPP, Nature *168*, 957 (1951).

[2] P. A. KHAIRALLAH und W. F. H. M. MOMMAERTS, Circulation Res. [I] *1*, 8 (1953).

[3] I. WAJZER und I. NEKHOROCHEFF, Arch. Sci. physiol. *6*, 233 (1952).

[4] H. MICHL, Mh. Chemie *82*, 489 (1951), vgl. auch B. KICKHÖFEN und O. WESTPHAL[7].

[5] G. BERGOLD und L. PISTER, Z. Naturf. 3b, 332 (1948); C. H. FISKE und Y. SUBBAROW, J. Biol. Chem. *66*, 375 (1925).

[6] H. K. BARRENSCHEEN und T. v. VALYI-NAGY, Z. Naturf. 4b, 203 (1949).

[7] B. KICKHÖFEN und O. WESTPHAL, Z. Naturforsch. *7b*, 655 (1952).

PRO LABORATORIO

Appareil pour la mesure de la consommation d'oxygène des petits animaux de laboratoire

De très nombreux dispositifs destinés à la mesure de la consommation d'oxygène des petits animaux de laboratoire ont été décrits. Pour les travaux pratiques du Service de Physiologie, nous utilisons couramment l'appareil de FARNER et CRAMPTON[1] qui donne toute satisfaction. Au cours de recherches sur les troubles métaboliques provoqués par divers types de chocs chez le rat, nous avons été amenés à étudier les variations de la consommation d'oxygène chez les animaux d'expériences et à apporter des modifications assez importantes à l'appareil original de FARNER et CRAMPTON. Pour pouvoir suivre durant plusieurs heures avec certitude les modifications de la consommation d'oxygène, il était indispensable:

1° d'opérer à température constante,

2° de faire des mesures à des intervalles de temps rapprochés,

3° de maintenir dans l'enceinte où vit l'animal une teneur en oxygène aussi voisine que possible de la tension normale,

4° de troubler l'animal au minimum pendant la durée de l'expérience.

De l'appareil original de FARNER et CRAMPTON, nous n'avons retenu, en fait, que le principe de la burette servant à la mesure de la consommation d'oxigène.

A.–*Description de l'appareil*

La figure ci-jointe représente schématiquement le dispositif employé, qui comprend essentiellement:

[1] F. FARNER et E. CRAMPTON, Canad. J. Res. Section F. *26*, 14 (1948).

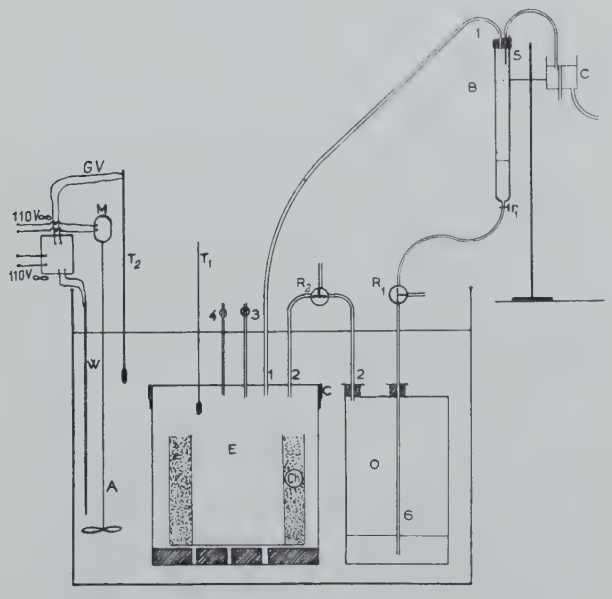
1° Une chambre étanche (*E*) où est placé l'animal,

2° La burette de mesure de la consommation d'oxygène (*B*),

3° Un réservoir d'oxygène pur (*O*),

4° Un thermostat contenant l'enceinte et la réserve d'oxygène.

1° *Chambre étanche* (*E*). La chambre étanche est constituée par une cuve cylindrique en aluminium de 21 cm de diamètre et de 21 cm de hauteur, lestée par des morceaux de plomb. L'enceinte est fermée à sa partie supérieure par un couvercle en aluminium muni d'un rebord de 1 cm. L'étanchéité est assurée par une bande de caoutchouc souple. Le couvercle est garni de plusieurs tubulures. Le tube 1 unit la chambre étanche à la burette de mesure (*B*). Le tube 2 relie la chambre étanche à la réserve d'oxygène (*O*). Les tubes 3 et 4, munis de robinets, permettent de faire circuler de l'air atmosphérique dans la chambre en dehors des périodes de mesure. Un thermomètre au 1/10e de degré (T_1) permet de contrôler la température de la chambre. Un récipient à chaux sodée (*Ch*), placé dans l'enceinte, permet d'absorber l'anhydride carbonique produit par l'animal. Ce récipient est fait de grillage fin, retenant la chaux sodée granulée.



Appareil pour la mesure de la consommation d'oxygène du rat.

Le rat est placé sur une plaque de plexiglas perforée disposée à 5 cm du fond de la chambre.

2° *Burette de mesure* (*B*). La burette de mesure de la consommation d'oxygène est constituée par un tube de verre cylindrique de 40 cm de long et de 250 cm³ de capacité. Elle est graduée en cm³, de 0 à 200 cm³. L'extrémité inférieure du tube est effilée et munie d'un robinet r_1. L'extrémité supérieure est fermée par un bouchon de caoutchouc garni de silicone. Ce bouchon est traversé par deux tubes. Le tube *1* relie la burette à la chambre étanche. Le tube *5* est un tube en *U* à extrémité effilée, fonctionnant comme siphon et s'alimentant dans un récipient (*C*) à niveau constant.

3° *Réservoir d'oxigène pur* (*O*). La réserve d'oxygène pur (*O*) est mise dans un flacon de 500 cm³ à deux tubulures. Un tube de verre (*6*) pénètre par l'orifice médian et descend jusqu'au fond du récipient. Il est réuni, par l'intermédiaire d'un robinet à trois voies (R_1) au robinet r_1 de la burette de mesure. La seconde tubulure laisse pénétrer jusqu'à l'affleurement un tube de verre (*2*) qui unit par l'intermédiaire d'un robinet à trois voies (R_2) le réservoir d'oxygène à la chambre étanche.

4° *Thermostat*. La chambre étanche et le réservoir d'oxygène sont immergés dans un thermostat rempli d'eau dont la température est maintenue constante par une résistance chauffante de 175 W (*W*). La régulation est assurée par un thermomètre à contact T_2 et un relai. Un agitateur *A* brasse continûment l'eau du thermostat.

B. – *Principe de la mesure*

Lorsque le rat est placé dans la chambre étanche (les robinets R_1, R_2, *3* et *4* étant fermés), l'anhydride carbonique qu'il produit est fixé par la chaux sodée. Les échanges respiratoires de l'animal diminuent la tension partielle de l'oxygène dans la chambre. La légère dépression créée dans la burette *B* (2 mm d'eau) fait passer dans cette dernière, par l'intermédiaire du tube-siphon *5*, un volume d'eau égal à celui de l'oxygène consommé. Lorsque l'extrémité du tube-siphon *5* placée dans la burette est correctement effilée, il n'y a aucune inertie dans le dispositif. En faisant varier la hauteur du récipient *C* par rapport à la burette *B*, il est aisé de trouver une position pour laquelle le siphon ne se désamorce pas et ne cause pas non plus d'écoulement permanent. Lorsqu'une mesure de consommation d'oxygène est terminée, on ouvre les robinets R_1 et R_2 de telle manière que l'eau contenue dans la burette *B* puisse s'écouler dans le fond du réservoir (*O*), faisant passer automatiquement dans la chambre (*E*) un volume égal d'oxygène. Lorsqu'après un certain nombre de mesures, le flacon (*O*) est plein d'eau, on place les robinets R_1 et R_2 en position telle que le réservoir (*O*) communique avec l'air extérieur. On branche alors une bombe d'oxygène sur la tubulure latérale du robinet R_2. L'eau est chassée par la tubulure latérale du robinet R_1 au fur et à mesure que le réservoir se remplit d'oxygène.

C. – *Mesure de la consommation d'oxygène*

Il est indiqué de laisser l'appareil chauffer à vide durant quelques heures. Lorsque l'équilibre thermique est établi, la température de l'enceinte (*E*) ne varie pas au delà de 1/10 de degré centigrade en une heure.

Le rat est introduit dans la chambre et cette dernière est rapidement fermée. On attend que l'équilibre de température soit atteint à nouveau pour commencer les mesures. L'enceinte est mise en communication avec la burette par le tube 1. Au bout de quelques minutes, un écoulement d'eau par le siphon indique que le dispositif fonctionne normalement.

On note le temps où le ménisque atteint la graduation 0 de la burette et on commence alors les mesures. Deux techniques peuvent être employées. On peut soit déterminer successivement les temps nécessaires à l'animal pour consommer un volume donné d'oxygène, soit mesurer les volumes d'oxygène consommés pendant un intervalle de temps constant. La première technique présente l'avantage de garder les animaux sous une même tension d'oxygène au cours d'expériences successives.

Durant les intervalles des mesures, on supprime les connexions de la chambre étanche avec la burette et le réservoir d'oxygène. On ouvre les robinets *3* et *4* et l'un d'eux est branché sur une trompe à eau. Un courant d'air est ainsi établi à l'intérieur de l'enceinte. Les résultats obtenus à l'aide de cet appareil chez le rat normal et chez le rat choqué seront publiés ultérieurement.

Nous remercions D. CORDIER de nous avoir aidé de ses conseils durant la mise au point de ce dispositif.

H. LEMARCHANDS

Laboratoire de physiologie générale, Faculté des Sciences, Université de Lyon, le 14 décembre 1953.

Summary

An apparatus has been described for measuring oxygen consumption in small animals. In this apparatus, the temperature changes are very small, the determinations of oxygen consumption are rapid and frequent, the oxygen tension is normal and the animals are in a good state of quietness.

DISPUTANDUM

Zur Wirkung von Colchiceinamiden an Zellen *in vitro* und *in vivo*

In einer eben erschienenen Arbeit erwähnen MEIER, SCHÄR und NEIPP[1], dass sie keine stärkere Wirkung des Colchicein-mono-methylamids im Vergleich zum Colchicin an *in vitro* gezüchteten Fibroblasten feststellen konnten. Diese von mir 1941 hergestellte Verbindung[2] (in Anlehnung an ZEISELS[3] Colchicamid als N-Methyl-colchicamid, NMC, bezeichnet) erwies sich im Test mit dem Mäuse-Ascites-Tumor[4] als etwa 3mal stärker wirksam als Colchicin[5]; gleiches gilt für ihre Wirkung an *in vitro* gezüchteten Fibroblasten (vgl. Tab.)[6]. Da wir Colchicin und NMC als Standardsubstanzen zum Vergleich mit anderen chemischen Faktoren routinemässig verwenden, sind diese Befunde in den letzten Jahren laufend reproduziert worden[7] und müssen daher in vollem Umfang aufrechterhalten werden.

Prozentzahl der Mitosen in Fibroblastenkulturen *in vitro*, 24 h gewachsen, bei Zusatz von

Colchicin		Colchicein-monomethylamid	
Dosis (γ/ml)	Mitosen	Dosis (γ/ml)	Mitosen
0	1,9	0	1,9
0,005	1,5	0,001	2,6
0,008	3,5	0,002	3,9
0,01	5,5	0,004	10,0
0,02	27,0	0,008	40,6
0,04	54,6	0,01	54

Die unterschiedlichen Feststellungen von MEIER, SCHÄR und NEIPP[1] können bedingt sein durch eine unterschiedliche Reaktionsweise verschiedener Zellarten, wofür wir heute, speziell bei Tumoren, eine Reihe von Beispielen kennen[2]. Dass die von MEIER, SCHÄR und NEIPP[1] verwendeten Hühnergefässfibroblasten so unterschiedlich von den von uns früher verwendeten Hühnerherzfibroblasten und den seit 1949 verwendeten periostalen Hühnerfibroblasten sein sollten, ist unwahrscheinlich. Wesentlicher erscheint mir die unterschiedliche Technik: wir setzen die zu prüfende Substanz unmittelbar beim Ansetzen der Kultur dem Medium zu und fixieren die Kulturen nach 24stündigem Wachstum. Die in der Tabelle angegebenen Zahlen sind Mittelwerte aus mindestens 6 Versuchskulturen. MEIER, SCHÄR und NEIPP[1] überschichten die 24 h ohne Zusatz gewachsenen Kulturen mit der Lösung der zu prüfenden Substanz und werten 8 h nach diesem Zusatz aus.

H. LETTRÉ

Aus dem Institut für experimentelle Krebsforschung der Universität Heidelberg, den 25. Februar 1954.

Summary

Colchiceine-N-mono-methylamide is 3–4 times as active as colchicine as shown by its effect on the mouse-ascites-tumor (EHRLICH) and on fibroblasts *in vitro*.

[1] R. MEIER, B. SCHÄR und L. NEIPP, Exper. *10*, 74 (1954).

[2] H. LETTRÉ, DRP.-Anmeldung vom 24. März 1942. – Angew. Chem. *55*, 265 (1942).

[3] S. ZEISEL, Mh. Chem. *9*, 1 (1888).

[4] H. LETTRÉ, Z. physiol. Chem. *268*, 59 (1941).

[5] H. LETTRÉ, Z. Krebsforschg. *57*, 1 (1950). – H. LETTRÉ, R. KRAPP und M. OCHSENSCHLÄGER, Z. Krebsforschg. *57*, 142 (1950).

[6] H. LETTRÉ, R. LETTRÉ und CH. PFLANZ, Z. physiol. Chem. *286*, 138 (1950).

[7] Zum Beispiel H. LETTRÉ, R. LETTRÉ und CH. PFLANZ, Z. physiol. Chem. *287*, 150 (1951). – H. LETTRÉ und W. BERGDOLT, Z. Krebsforschg. *59*, 68 (1953). – H. GROPP, Z. Krebsforschg., im Druck. – R. KAUF und J. MAIER, Z. Krebsforschg. (im Druck).

[1] R. MEIER, B. SCHÄR und L. NEIPP, Exper. *10*, 74 (1954).

[2] Vgl. H. LETTRÉ, Z. Krebsforschg. *59*, 568 (1953).

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Progress in Metal Physics

By BRUCE CHALMERS

Vol. III, 334 pages, 122 figures
(48/–)
Vol. IV, 403 pages, 124 figures
(60/–)

(Pergamon Press Ltd., London, 1952 and 1953)

Die Veröffentlichungen sind auf dem Gebiet der Metallphysik in den letzten Jahren derart angewachsen, dass es beinahe unmöglich wird, den Überblick auf allen Teilgebieten zu behalten. BRUCE CHALMERS, Professor an der Universität Toronto, hat deshalb die Herausgabe von jährlich erscheinenden Fortschrittsberichten unternommen, in denen in separaten Abhandlungen die Entwicklung bestimmter Teilgebiete behandelt wird. Der Herausgeber hat es bis jetzt trefflich verstanden, für jedes Teilgebiet geeignete Bearbeiter zu finden.

Aus Band III sei unter 8 Abhandlungen jene von N. F. MOTT über die Elektronentheorie der Metalle zu näherer Besprechung herausgegriffen. Einleitend stellt MOTT in wellenmechanischer Ausdrucksweise die Unterschiede zwischen Metallen und Nichtmetallen dar. Anschliessend werden die magnetischen und thermischen Eigenschaften von Elektronen in Metallen diskutiert. Es folgen Auseinandersetzungen über die metallische Kohäsion und die elastischen Konstanten der Metalle. Ein weiteres Kapitel ist der Ladungsverteilung um Fremdatome in fester Lösung gewidmet, wobei u.a. aus röntgenspektroskopischen Untersuchungen erhaltene Aufschlüsse zur Darstellung kommen. Schliesslich werden verschiedene Arten von Gitter-Fehlstellen elektronentheoretisch beleuchtet.

Weitere von andern Bearbeitern redigierte Abhandlungen dieses III. Bandes betreffen Kristallographie von Umwandlungsvorgängen, Eigenschaften der Metalle bei tiefsten Temperaturen, Zwillingsbildung, Ferromagnetismus, röntgenographische Spannungsmessung, Rekristallisation und Kornwachstum, Struktur der Korngrenzen.

Band IV enthält 7 Abhandlungen. Wir greifen jene von A. LE CLAIRE über Diffusion in Metallen heraus. Im ersten Abschnitt wird über den Kirkendall-Effekt und das oft mit ihm verbundene Auftreten von Porositäten in Diffusionssystemen berichtet. Die Diffusion über Gitterlücken soll nach heute vorherrschender Auffassung zur Erklärung der Verschiebung der Grenzfläche des Diffusionssystems (Kirkendall-Effekt) wie auch der Bildung von Porositäten hinreichend sein, wenn man annimmt, dass 2 gegeneinander diffundierende Atomarten A und B eine unterschiedliche Bereitschaft aufweisen, mit Gitterlücken Platzwechsel einzugehen. Nach Ansicht des Referenten trifft das wohl für das erste Phänomen – die Grenzflächenverschiebung – zu, nicht aber für das zweite, die Entwicklung von Porositäten. Diese Erscheinungen wird noch grundsätzliche Wandlungen unserer Ansichten über Diffusionsmechanismen im Gefolge haben. In einem weiteren Abschnitt werden indirekte Methoden zur Bestimmung von Diffusionskoeffizienten behandelt, die mit Sinterung, innerer Reibung und elastischen Nachwirkungen zusammenhängen. Schliesslich folgen thermodynamische und kinetische Betrachtungen über die Diffusion. Angesichts der Wichtigkeit, die der Diffusion für jegliche Vorgänge in Metallen zukommt, ist es sehr zu begrüssen, dass der erste Fortschrittsbericht über Diffusion in Band I durch diesen zweiten in Band IV ergänzt wird. Weitere Abhandlungen des Bandes IV betreffen innere Reibung in Metallen, den Oxydationsmechanismus von Metallen und Legierungen bei hohen Temperaturen, Gase in Metallen, Theorie der Sinterung, Theorie der Versetzungen und Keimbildung.

Das Studium dieser Fortschrittsberichte ist jedem an der Metallphysik Interessierten warm zu empfehlen. BRUCE CHALMERS darf des Dankes der Metallphysiker gewiss sein.

F. ROHNER

Advances in Veterinary Science I

Edited by C. A. BRANDLY and E. I. JUNGHERR

Advisory Board: Sir TH. DALLING, P. J. DU TOIT, W. FREI, W. A. HAGAN, A. HJÄRRE, C. A. MITCHELL
431 pages

(Academic Press Inc., Publishers, New York, N.Y., 1953).

In der Erkenntnis, dass der einzelne das veterinärmedizinische Wissensgebiet schon längst nicht mehr übersehen kann, haben sich eine Anzahl nordamerikanischer Wissenschafter zusammengetan, um über die neueren Forschungsergebnisse derjenigen Zweige der Veterinärmedizin zu berichten, die besondere Fortschritte aufzuweisen haben. Die Tendenz des Buches geht dahin, aufzuzeigen, dass heute die Veterinärmedizin intensiver wie früher im Dienste der Wirtschaft und vor allem der öffentlichen Gesundheit steht, weshalb auf die Behandlung der Zoonosen besonderes Gewicht gelegt wurde.

Folgende Kapitel kommen in diesem Band zur Besprechung: Anthropozoonosen: K. F. MEYER; Viruskrankheiten: J. A. BAKER und CH. J. YORK; Sulfonamide: D. K. DETWEILER und S. F. SCHEIDY; Antibiotica: S. F. SCHEIDY und D. K. DETWEILER; Rindersterilität: D. E. BARTLETT und W. I. BOYD; Rindermastitis: W. N. PLASTRIDGE; Schweinekrankheiten: S. H. MCNUTT; Veterinärmedizin und öffentliche Gesundheit: J. H. STEELE.

In allen Abschnitten, die in den Kompetenzbereich des Referenten fallen, kann festgestellt werden, dass die neuesten Ergebnisse und Methoden und die wirklich aktuellen Probleme in ausgezeichneter Weise besprochen werden. Für den Studenten und den praktischen Tierarzt bietet das Buch eine hervorragende Übersicht über einige wichtige Gebiete des Berufes und vermittelt Zusammenhänge.

Für den Wissenschafter ist es ein sehr wertvoller Ausgangspunkt für eigene Untersuchungen, vor allem, weil bei jedem Abschnitt ausgedehnte Literaturnachweise zu finden sind.

Es ist beabsichtigt, in weiteren Bänden nicht nur amerikanische, sondern Forscher aus allen Kontinenten zu Worte kommen zu lassen.

H. FEY

Die Erforschung der Wirkstoffe des Mutterkorns beschäftigte namhafte Chemiker und Apotheker während Jahrzehnten. Einen ersten Markstein bedeutete die Entdeckung und Reindarstellung des Alkaloids Ergotamin in den Laboratorien der Sandoz A.G., wo in der Folge auch die Auffindung und Herstellung weiterer für die Medizin äusserst wertvoller Mutterkorn-Reinalkaloide gelang. Neue therapeutische Aspekte eröffnete die erstmals bei Sandoz erfolgte Hydrierung dieser Stoffe. Folgende Präparate sind das Ergebnis dieser Forschungen:

Cafergot

Dihydroergotamin-Sandoz

Gynergen

Hydergin

Methergin

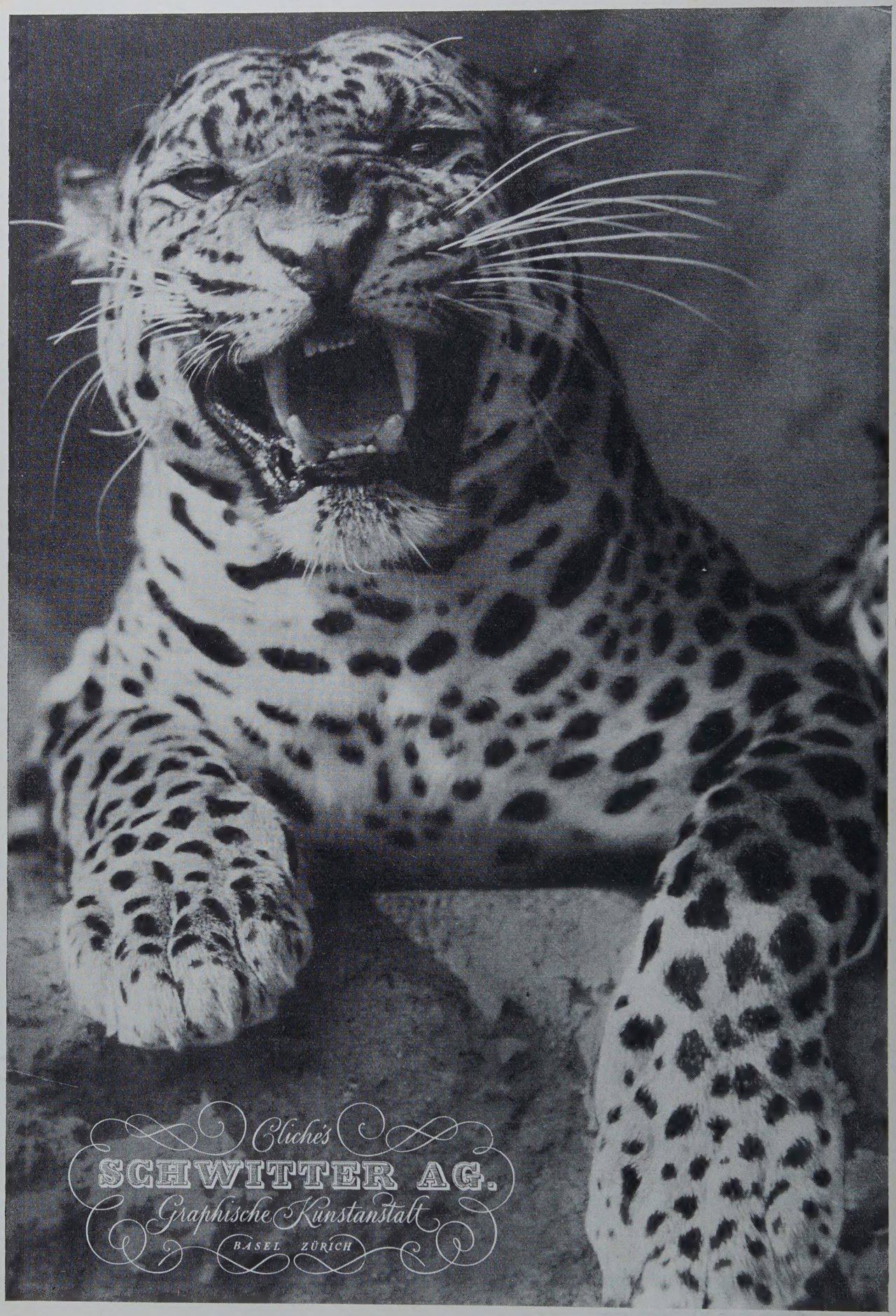
Neo-Gynergen

Partergin

SANDOZ

S A N D O Z A. G.

Eine Monographie über den Stand der Mutterkorn-Forschung steht Interessenten zur Verfügung.


Cliché's
SCHWITTER AG.
Graphische Kunstanstalt
BASEL ZÜRICH